

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

JEAN BONTOUX

PHARMACIEN

BOURSIER DU COMMISSARIAT A L'ÉNERGIE ATOMIQUE

1^{re} THÈSE

LA GÉLATINE DANS L'OR COLLOÏDAL RADIOACTIF

2^e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 29 Juin 1961 devant la Commission d'Examen

MM. C. BOUHET, *Professeur,*

J. SALVINIEN, *Professeur*

Mlle G. CAUQUIL, *Professeur*

M. R. MARIGNAN, *Professeur*

à la Faculté de Pharmacie

Président.

} *Examineurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1961

La gélatine
dans l'or colloïdal radioactif

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

JEAN BONTOUX

PHARMACIEN

BOURSIER DU COMMISSARIAT A L'ÉNERGIE ATOMIQUE

1^{re} THÈSE

LA GÉLATINE DANS L'OR COLLOÏDAL RADIOACTIF

2^e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 29 Juin 1961 devant la Commission d'Examen

MM. C. BOUHET, *Professeur,*

Président.

J. SALVINIEN, *Professeur*

Mlle G. CAUQUIL, *Professeur*

M. R. MARIGNAN, *Professeur*

à la Faculté de Pharmacie

} *Examineurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1961

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

<i>Doyen</i>	B. CHARLES, Mathématiques pures.
<i>Assesseur</i>	R. JOUTY, Physique.
<i>Professeurs honoraires</i> ...	J. PAVILLARD, R. JACQUES, M. CASTERAS, E. CARRIÈRE, E. TURRIÈRE, J. SOULA, G. DENIZOT.
<i>Professeurs titulaires</i>	M. MOUSSERON, Chimie organique. L. EMBERGER, Botanique. C. BOUHET, Physique. P. MATHIAS, Zoologie et Biologie générale. P. CHATELAIN, Minéralogie et Cristallographie. Mlle O. TUZET, Zoologie et Biologie générale. Mlle G. CAUQUIL, Chimie organique. J. GRANIER, Physique. J.-L. TROCHAIN, Botanique coloniale. J. SALVINIEN, Chimie - Physique. G. COUCHET, Mécanique Supérieure. J.-P. KAHANE, Analyse Supérieure. Mlle A.-M. VERGNOUX, Physique. P. SILBER, Chimie minérale. J. AVIAS, Géologie. P. VIELES, Chimie. J. RABINOVITCH, Physique. E. KAHANE, Chimie biologique. J.-J. MOREAU, Mécanique rationnelle. J. MOTTE, Botanique. R. NOZERAN, Botanique.
<i>Professeur associé</i>	E. AKUTOWICZ, Mathématiques.
<i>Professeurs sans chaire</i> ...	Mme J. CHARLES, Mathématiques. C. CHALIN, Physique. R. JACQUIER, Chimie. Mlle de POUQUES, Botanique.
<i>Maîtres de Conférences</i> ...	R. LAFONT, Physique. I. ASSENMACHER, Physiologie animale. J. FALGUEIRETTES, Minéralogie. L. EUZET, Zoologie. C. ROUMIEU, Mathématiques. J. PERETTI, Physique. M. MATTAUER, Géologie. P. CAILLON, Physique. J. REMY, Géologie. G. TOURNE, Chimie minérale. H. ANDRILLAT, Astronomie. P. MURAOUR, Géophysique appliquée. Mme VERNET-CORNUBERT, Biologie animale. A. BONNET, Botanique. P. DEMANGEON, Géologie. E. GROUBERT, Physique. H. CHRISTOL, Chimie. Mme LAFON, Mathématiques. J. ROUZAUD, Chimie.
<i>Chargés d'Enseignement</i> ...	M. LEFRANC, Mathématiques. A. MARTINEAU, Mathématiques.
<i>Secrétaire principal</i>	E. SIAU.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MES MAÎTRES,

MONSIEUR LE PROFESSEUR MARIGNAN

Professeur de Physique
à la Faculté de Pharmacie de Montpellier

MADemoiselle BARDET

Maître de Conférences
à la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Hommage de respectueuse gratitude.

2719/63

AVANT-PROPOS

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Physique de la Faculté de Pharmacie de Montpellier sur proposition du Service des Radio-éléments Artificiels du Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay.

Monsieur le Professeur MARIGNAN en a assumé la direction. C'est grâce à la clarté de son raisonnement et à sa grande culture que j'ai pu mener cette thèse à son terme. Je voudrais qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance pour la formation scientifique mais aussi humaine qu'il m'a donnée.

Mademoiselle BARDET, Maître de Conférences, a été très étroitement associée à ces recherches. Elle m'a guidé par ses conseils utiles et éclairés. Sa connaissance approfondie des sciences physiques m'a été une aide précieuse. Bien souvent aussi ses encouragements ont eu raison de ma lassitude. Qu'elle me permette de lui exprimer ma profonde gratitude.

J'ai contracté également une grande dette de reconnaissance envers le Service des Radioéléments Artificiels du Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay. Je remercie Messieurs FISHER, HENRY et JOLCHINE pour l'accueil qu'ils m'ont toujours réservé. Ils ont bien voulu me confier un sujet d'étude qui les intéressait et me donner les moyens matériels de conduire mon travail. Mais aussi, ils m'ont permis de profiter de l'expérience étendue qu'ils avaient du colloïde d'or. Les renseignements nombreux que j'ai trouvés auprès d'eux m'ont évité bien des faux pas.

Je prie Monsieur le Professeur BOUHET d'accepter mes remerciements pour l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de cette thèse et pour toute la sollicitude qu'il a témoignée à mon égard.

Que Monsieur le Professeur SALVINIEN, qui a bien voulu s'intéresser à ce travail, et Mademoiselle le Professeur CAUQUIL, qui m'a donné accès à toutes les ressources de son laboratoire, me permettent de les remercier respectueusement.

Tous les développements de ce travail trouvent leur origine en l'étude de l'or colloïdal radioactif préparé par le Commissariat à l'Energie Atomique.

Les problèmes que les hydrosols d'or posent sont d'une variété extrême : formation, stabilité, structure, emploi sont autant de sujets pouvant donner matière à recherches.

Il est loin de notre but de vouloir les envisager tous dans leur ensemble.

Le colloïde qui nous intéresse a deux constituants principaux : l'or et la gélatine.

Notre étude porte sur la gélatine, sur son incidence dans tous les domaines que nous venons d'évoquer.

La première partie se rapporte au rôle de la gélatine dans l'existence même de l'hydrosol d'or, c'est-à-dire dans sa formation et sa stabilité.

La deuxième partie essaie de rendre compte des modifications que subit la gélatine du fait de ce rôle.

La troisième partie, enfin, envisage les conséquences de la présence de la gélatine dans l'emploi de l'or colloïdal.

PREMIÈRE PARTIE

Rôle de la gélatine
dans la préparation et la stabilisation
de l'or colloïdal

INTRODUCTION

Depuis KUNKEL en 1679 on connaît le verre rubis. Le pourpre de CASSIUS des céramistes date de 1663. Le premier hydrosol d'or à peu près pur a été préparé par FARADAY [1] en 1857.

L'or colloïdal est donc un sujet d'étude très ancien, de nombreux auteurs se sont penchés sur lui. Les travaux que nous apporte la bibliographie envisagent essentiellement trois problèmes :

- la préparation de l'or colloïdal,
- sa structure,
- sa stabilité et sa stabilisation,

les deux derniers points étant plus ou moins liés.

Nous ne passerons pas ici en revue les multiples modes de préparation qui ont été proposés et retiendrons seulement l'idée que la préparation d'un hydrosol est une technique chimique ou physique d'obtention d'or finement divisé.

C'est ainsi qu'on utilise :

- La réduction chimique qui est effectuée presque toujours à partir du chlorure aurique. Les réducteurs utilisés sont des plus variés : phosphore, formol, acide citrique, acide ascorbique, eau oxygénée, glucose et toute une gamme de produits organiques.

- La dispersion électrique proposée par BREDIG.

Nous reviendrons avec détails sur les problèmes posés par cette préparation en étudiant l'or colloïdal du C.E.A.

La nature et la structure de la micelle colloïdale ont été discutées très tôt. Ces discussions ont été soulevées en particulier par les différences de coloration présentées par les sols et la difficulté de trouver des explications pleinement satisfaisantes.

Bien que certains auteurs (THIESSEN [2], BUEHRER, WARTMAN et NUGENT [3]), aient depuis longtemps invoqué l'existence, comme responsable de la couleur, d'un oxyde aureux ou même d'un oxyde aurique qui constituerait tout ou partie du colloïde, l'hypothèse de la nature métallique de l'or colloïdal s'est de plus en plus affirmée au cours du temps.

Admise déjà par FARADAY, elle a été par la suite étayée par de nombreux travaux tels que ceux de KAUTSKY et PAULI [4], FUCH et PAULI [5], ADOLF et PAULI [6], SCHERRER [7], BJORENSTAHL [8], si bien que ZSIGMONDY [9] réfute toute autre hypothèse. Les travaux les plus récents de microscopie et de diffraction électronique dus à BERESTENEVA et KARGUIN [10] confirment l'existence de particules cristallines.

C'est d'ailleurs en assimilant l'hydrosol d'or à une dispersion de micro-cristaux sphériques d'or métal que MIE [11] avait dès 1908 bâti tout un raisonnement mathématique basé sur la théorie électromagnétique pour expliquer les diverses colorations des sols d'or. Il ressort de cette théorie que cette coloration serait rigoureusement liée à la dimension des particules.

De nombreux chercheurs ont essayé de vérifier expérimentalement la théorie de MIE par des études d'absorption, de diffusion et de polarisation [12 à 20]. Leurs résultats ne peuvent pas cependant être pris en considération avec beaucoup de certitude à cause de l'imprécision de leur mesure sur la taille, la forme et l'état d'agrégation des particules.

L'utilisation du microscope électronique a rendu depuis ces déterminations beaucoup plus précises. Cela joint à la possibilité d'utiliser des préparations d'or moins polydispersées a permis à TURKEVITCH [21] de reprendre cette étude sur des bases plus sûres et de conclure à un accord entre la théorie de MIE et l'expérience.

Il est probable cependant que la taille n'est pas le seul facteur dont dépend la coloration des sols. Cela joint aux difficultés signalées plus haut relatives à la définition expérimentale des sols d'or étudiés, explique certainement que, comme le signalait ZSIGMONDY en 1926, la théorie de MIE ne rende pas compte de tous les faits expérimentaux. La première hypothèse émise par cet auteur pour expliquer ces divergences, à savoir les associations particulières, est évidente ; elle a été d'ailleurs vérifiée par TURKEVITCH. La deuxième « que les micelles ne sont pas remplies complètement par l'or » laisse prévoir l'importance que pourra avoir le mode de préparation. Effectivement DE BROUCKÈRE et coll. [22] ont montré que pour un même diamètre, la couleur variait avec le mode de préparation, et TURKEVITCH pour mettre en évidence l'influence du mode de préparation a étudié spectrophotométriquement un sol coloré en bleu réputé comme contenant un oxyde aureux.

D'après cet auteur « la différence entre le spectre d'absorption de ce sol d'or métallique et ceux de sols de même dimension (1 000 Å) peut être due à la présence de l'oxyde aureux ».

A remarquer que TURKEVITCH n'a jamais mis en évidence dans tous les sols étudiés par lui, la présence d'ion aurique qui auraient été adsorbés par la micelle.

Tous ces faits conduisent à admettre que dans la micelle colloïdale il y a certainement un réseau cristallin qui explique les résultats positifs de MIE et les diagrammes de diffraction électronique mais que ce réseau ne doit pas être parfait. Son mode de formation nous porte également à le croire.

En effet BERESTEVENA et KARGUIN [10] écrivent : « D'après les données que nous avons obtenues au microscope électronique sur une série de systèmes colloïdaux typiques tels que ceux d'oxyde titannique, de silice, de sulfure d'arsenic, d'hydroxyde d'aluminium, de pentoxyde de vanadium et d'or, l'acte initial de la formation de la particule colloïdale conduit à l'obtention de particules sphériques ou informes, à structure amorphe. Les particules cristallines apparaissent en tant que formation secondaire au cours du vieillissement du système colloïdal. Par suite de l'apparition de formations cristallines à l'intérieur de la particule amorphe, il se crée des tensions et la particule se scinde en une multitude de petites particules déjà cristallines. »

Ce processus se ferait dans le cas de l'or en cinq ou dix minutes suivant la température.

Il nous semble peu vraisemblable que la cristallisation faite au sein de la particule amorphe se fasse sans inclusions diverses et avec un réseau parfait.

Cette idée rejoint DUCLAUX [23] qui a montré que les propriétés essentielles des colloïdes minéraux sont dues aux défauts des réseaux de la substance qui les constitue. Ces défauts sont attribuables à des impuretés c'est-à-dire des ions variables suivant le milieu et dans tous les cas de l'eau.

DUCLAUX [24] rappelle à ce propos le fait expérimental dû à PAULI [25] mettant en évidence l'existence d'eau liée dans l'or colloïdal résistant à l'évaporation. Il rappelle aussi les mesures de SACHS [26] vérifiées par lui-même, qui donnent des résultats anormaux si l'on suppose que la micelle d'or a même densité que l'or métal.

Nous concluerons donc avec DUCLAUX que la particule de l'hydrosol, à côté de sa partie cristalline proprement dite a une « partie active » variable suivant le mode de préparation et responsable des changements de coloration et de la majeure partie des propriétés physico-chimiques du colloïde.

La démonstration expérimentale de cette structure a d'ailleurs été faite par PAULI et RUSSE [27]. Ils ont pour cela congelé des sols obtenus par la méthode électrique de BREDIG.

Par congélation il y a destruction du colloïde et libération d'ions complexes d'or aurique. Les auteurs, en se basant sur des dosages conductimétriques de Cl leur permettant de bien séparer Cl libre de Cl complexé pensent que les complexes auriques proviennent de la dismutation de complexes aureux portés par les micelles en or métal et or aurique.

En admettant cette structure essayons d'aborder le problème de la stabilité. Deux cas doivent être envisagés :

a) Le colloïde n'est pas protégé.

Puisque le colloïde existe et qu'il est stable, tout au moins un certain temps, c'est qu'il porte des charges. Expérimentalement on met en évidence des charges négatives. Elles sont évidemment apportées par les ions.

b) Le colloïde est protégé.

Le rôle protecteur de diverses substances organiques est connu depuis longtemps. On a même essayé de le chiffrer. ZSIGMONDY pour cela a défini un « indice d'or » de telle sorte, dit-il, « que l'on possède dans leur évaluation un moyen pratique de noter les différences de qualités de corps semblables les uns aux autres » [9].

En ce qui concerne le mécanisme de la stabilisation ce même auteur note que « les charges électriques toutes seules ne peuvent expliquer les principales réactions ». En effet des concentrations élevées en électrolytes ne flocculent pas le colloïde d'or lorsqu'il est protégé.

DUCLAUX [28] en parlant d'un sol stabilisé par de la gélatine écrit : « Ce n'est plus un hydrosol d'or mais un hydrosol de gélatine entourant des granules d'or ».

La stabilisation modifie d'ailleurs les réactions caractéristiques du colloïde. On peut dans certains cas particuliers redisperser un sol protégé qui avait été évaporé à sec [29].

On peut donc conclure des travaux antérieurs qu'il y a union intime entre le colloïde protecteur et le colloïde protégé et que cette union est spécifique des groupes ionogènes du protecteur [30].

L'interaction entre les deux se ferait grâce à la partie active de la micelle d'or.

La plupart des auteurs précédents avaient essayé d'étudier directement sur l'or colloïdal le phénomène de stabilisation. Il nous a paru

qu'une telle étude effectuée sur un système aussi complexe ne pouvait conduire à des résultats facilement interprétables et cela pour bien des raisons : ne serait-ce qu'à cause de la présence de l'or métallique dans le milieu qui limite l'emploi des méthodes optiques et plus généralement à cause de l'hétérogénéité du système.

La partie active de la particule étant formée d'eau et de complexes ioniques de l'or, il nous a paru intéressant pour éclairer, tout au moins de façon partielle, le problème de la protection du colloïde, d'étudier l'interaction en solution aqueuse de l'or ionique et des macromolécules protectrices.

LES INTERACTIONS IONS-POLYÉLECTROLYTES

Les interactions liant l'or ionique aux polyélectrolytes protecteurs de l'hydrosol, si elles existent, ne sont qu'un cas particulier des interactions métal-polyélectrolytes qui ont fait l'objet de multiples travaux ces dernières années.

Généralités

Le domaine est vaste et il est difficile d'en avoir une vue d'ensemble. Ceci est dû au fait que les liaisons mises en évidence prennent les formes les plus variées et échappent à une classification stricte.

On peut toutefois, en suivant KATCHALSKY [31], distinguer schématiquement :

- les liaisons par effets électrostatiques non spécifiques,
- les liaisons spécifiques.

1°) *Les liaisons par effets électrostatiques non spécifiques.*

Les polyélectrolytes sont considérés globalement comme porteurs de charges importantes, variables dans certains cas avec le pH. Ces charges leur confèrent un domaine d'influence dans lequel sont attirés les petits ions de signe opposé. Ces ions se sont pas individuellement fixés par le macro-ion. Ils s'échangent avec leurs voisins même si ceux-ci sont de nature différente pourvu que l'équilibre des charges soit respecté. Il s'ensuit que l'interaction est noyée lorsque la force ionique est augmentée par une quantité importante de sels neutres, les ions des sels neutres de signe opposé à la charge du polyélectrolyte neutralisant cette charge au même titre que les ions dont on poursuit l'étude. Il n'y a plus d'interaction mesurable.

Des exemples à peu près purs de ces liaisons se rencontrent dans l'étude que BOURDAIS [32] a faite de l'ion Na^+ en présence d'acide polyacrylique totalement dissocié et de l'ion Cl^- en présence de polyvinylamine. Il n'y a pas de spécificité du groupe ionisable et les ions compensateurs à charge égale ont même effet. Seuls des effets d'encombrement stérique peuvent provoquer de légères différences.

2^o) *Les liaisons spécifiques.*

Le nombre d'ions fixés par une molécule de polyélectrolyte varie alors avec la nature de l'ion. Deux ions de même charge mais de nature différente n'auront pas le même effet. La liaison peut résister aux concentrations élevées de sels simples ; les ions apportés par les sels simples ne se substituent pas aux ions donnant des liaisons spécifiques.

Dans le cas des protéines les auteurs « ont associé à ce phénomène la notion fondamentale d'emplacements (sites) particuliers sur la surface de la molécule de protéine » [33].

La liaison semble localisée. Il ne faut toutefois pas assimiler toujours purement et simplement les sites à un groupe de fonctions portées par la protéine étudiée. Si les séquences d'acides aminés constitutifs de la chaîne polypeptidique jouent un rôle important dans l'existence et la localisation des sites, la configuration géométrique de cette chaîne intervient également. Il faut se représenter selon la théorie de PAULING certaines protéines comme des enroulements hélicoïdaux, eux-mêmes plus ou moins pelotonnés suivant le pH et la force ionique. Si les ions simples ne noient pas la liaison ils peuvent la modifier car le fait que la liaison soit spécifique n'entraîne pas d'hypothèse sur sa nature intime. Les charges n'expliquent pas tout dans une liaison spécifique mais elles peuvent intervenir. Il peut y avoir aussi bien formation d'une « paire d'ions » plus ou moins stable et sensible au champ électrostatique qu'une liaison covalente.

Pour les polyélectrolytes synthétiques un exemple de liaison spécifique nous est fourni par BOURDAIS avec le polyacrylate d'argent [32]. L'ion Ag^+ forme des paires d'ions très stables avec le groupe carboxylate des poly-électrolytes. Dans les résines carboxyliques le coefficient de sélectivité de l'ion Ag^+ par rapport à l'ion Na^+ est de 100 à 200.

Les protéines présentent de nombreux cas de liaisons spécifiques avec les métaux [34]. Les métaux de transition tels que le mercure, l'argent, le cuivre, le zinc donnent des liaisons très solides. On a même pu ici identifier les fonctions où elles se localisent. Le mercure se fixe sur les groupements SH de l'albumine. [35] ; l'argent aussi [36]. Le cuivre se lie avec l'azote des liaisons peptidiques [37, 38], le zinc avec le groupement imidazol [39]. GUSTAVSON en étudiant les

fixations de chrome sur le collagène, note : « les groupements carboxyles pénètrent dans le complexe cationique du chrome et forment une liaison extrêmement stable, covalente » [40].

Les liaisons avec les métaux alcalino-terreux sont moins solides en général. On peut quand même compter le nombre de sites de l'albumine susceptibles de fixer les ions Ca^{++} à un pH donné [41].

Les alcalins ne semblent pas, eux, donner de liaisons spécifiques nettes.

Il n'y a pas de méthode générale pour aborder une interaction entre ion et polyélectrolyte. Chaque problème pose des conditions particulières. Aussi n'est-il pas étonnant que l'on rencontre dans la littérature toutes les techniques de physico-chimie employées tour à tour.

En nous inspirant de KÉPÈS [42] on peut classer les méthodes en deux catégories :

— Celles de la première catégorie permettant de mettre en évidence la liaison par mesure de la concentration totale des ions mis en expérience et de la concentration des ions restés libres après l'interaction. On a alors par différence le nombre d'ions liés. La formule globale du complexe en découle sans qu'il soit nécessaire de faire l'hypothèse sur son équation de formation.

Les mesures d'activité, de dialyse, de diffusion brownienne de conductivité se classent ici.

— Dans la deuxième catégorie se trouvent les méthodes qui suivent les modifications d'une propriété d'un des éléments du système ou l'apparition d'une nouvelle propriété due au complexe lui-même. On n'atteint pas alors directement le nombre d'ions fixés. On cherche une équation justifiant la loi de variation de la quantité mesurée. On est amené ainsi parfois à poser certaines hypothèses.

Les mesures d'électrophorèse, de spectrophotométrie, de diffusion lumineuse entrent dans cette catégorie.

Le choix semble vaste mais chaque méthode a en réalité des limites assez précises d'application. La conductivité n'est d'aucun secours lorsque le milieu a une force ionique importante ; on ne dispose pas toujours pour les mesures d'activité d'électrode satisfaisante. La spectrophotométrie demande un spectre caractéristique. Les mesures de diffusion brownienne qui semblent d'un emploi très général sont difficilement applicables lorsque les ions susceptibles d'interagir peuvent exister simultanément sous des formes multiples. La diffusion lumineuse nécessite un complexe relativement stable avec la dilution.

Position du système étudié

Peut-on a priori classer notre système or-polyélectrolyte dans l'une des catégories précédentes ?

La micelle d'or colloïdal porte des charges négatives. Les polyélectrolytes protecteurs sont généralement des protéines et peuvent donc porter des charges positives. Une liaison électrostatique non spécifique n'est pas impossible de prime abord. Mais, et c'est là le critère de la stabilisation d'un sol, la présence importante de sel neutre ne détruit pas le sol protégé. Si lors de l'addition de chlorure de sodium, les ions Cl^- avaient la même affinité pour les charges positives de la protéine que les charges négatives des complexes d'or portés par la micelle, l'effet stabilisateur disparaîtrait. Le colloïde flocculerait. On ne peut assimiler la stabilisation à un simple effet électrostatique non spécifique. L'or, d'autre part est un métal donnant des ions de transition existant en solution sous forme de complexes ; il est logique de s'attendre à la formation de liaisons spécifiques et même nettement localisées avec les protéines.

Dans notre système, nous savons que l'interaction qui nous intéresse se maintient en présence d'une force ionique importante. C'est un premier élément d'information. La force ionique simplifie le comportement physico-chimique des polyélectrolytes, elle permet l'emploi de tampons. Mais certaines méthodes se trouvent exclues.

D'autres impératifs nous seront apportés par l'étude détaillée des solutions d'or ionique. Et nous savons que ces solutions sont complexes.

LES SELS D'OR EN SOLUTION

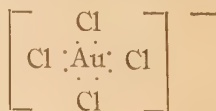
L'or forme avec le cuivre et l'argent les éléments du groupe IB de la classification périodique. Ces éléments possèdent normalement un électron de valence, la couche sous-jacente étant saturée à 18 électrons. Mais cette structure électronique peut se modifier. Il y a formation d'ions de transition. Le niveau d'énergie immédiatement sous-jacente (5 d pour l'or) peut mobiliser un ou deux électrons pour donner des liaisons chimiques. Plusieurs valences se manifestent alors. L'or, à côté de sa valence un, présente une valence trois.

D'autre part, l'or, l'argent et le cuivre ont un caractère électropositif très peu marqué. L'or est même le métal le plus électronégatif. Il s'ensuit une tendance très grande à la formation de complexes. La coordinence est généralement de deux pour l'or monovalent et de quatre pour l'or trivalent.

Le seul sel d'or usuel est le chlorure aurique. C'est lui qui sert comme produit de départ dans toutes les préparations d'or colloïdal par voie chimique. Aussi est-ce à lui que nous nous sommes adressés pour notre étude.

Il s'obtient par combinaison directe du chlore et de l'or dans des conditions de température bien définies. En fait on le fabrique généralement par action de l'eau régale sur l'or métallique suivie d'une évaporation sous vide. On obtient des cristaux jaunes. Les conditions de l'évaporation interviennent dans la qualité du produit obtenu. Il est difficile d'éliminer totalement l'acide chlorhydrique [43]. Si l'évaporation est trop poussée le chlorure aurique perd du chlore et il se forme du chlorure aureux.

Par action de l'eau sur les cristaux on obtient une solution acide où l'on admet que l'or est présent sous forme d'ion chloroaurique. C'est un ion complexe covalent de structure quadrangulaire plane :



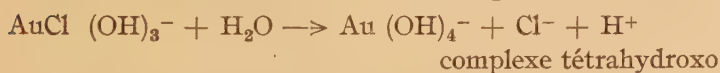
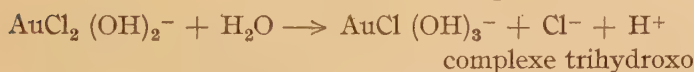
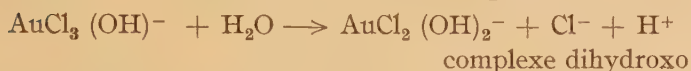
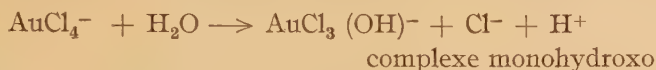
Pour définir totalement le système formé par une solution de chlorures d'or il faut étudier les deux équilibres :



Solutions de chlorure d'or : Hydrolyse

— La stabilité et la composition des solutions de chlorure d'or ont été étudiées par BJERRUM [44] dans un travail important qui nous a guidé tout le long de la définition de nos solutions d'or.

L'ion chloroaurique en solution aqueuse s'hydrolyse : les chlores complexés peuvent s'échanger avec des hydroxyles. BJERRUM a supposé que les équations d'équilibre suivantes pouvaient se produire :



Ces équations mettent en évidence que l'hydrolyse peut progresser aussi bien par élimination des ions Cl^- du milieu que par diminution de la concentration en H^+ .

On peut écrire les quatre constantes d'équilibre :

$$K_1 = \frac{[\text{AuCl}_3(\text{OH})^-] \cdot [\text{H}^+] \cdot [\text{Cl}^-]}{[\text{AuCl}_4^-]} \cdot f^2$$

$$K_1 = \frac{[\text{AuCl}_2(\text{OH})_2^-] \cdot [\text{H}^+] \cdot [\text{Cl}^-]}{[\text{AuCl}_3(\text{OH})^-]} \cdot f^2$$

$$K_3 = \frac{[\text{AuCl}(\text{OH})_3^-] \cdot [\text{H}^+] \cdot [\text{Cl}^-]}{[\text{AuCl}_2(\text{OH})_2^-]} \cdot f^2$$

$$K_4 = \frac{[\text{Au}(\text{OH})_4^-] \cdot [\text{H}^+] \cdot [\text{Cl}^-]}{[\text{AuCl}(\text{OH})_3^-]} \cdot f^2$$

f étant le coefficient d'activité moyen calculé par la formule de GUGGENHEIM :

$$\log f = \frac{\sqrt{j}}{1 + \sqrt{j}}$$

(j = force ionique)

BJERRUM a déterminé ces constantes pour des concentrations en or allant de 0,01 M à 0,001 M en présence de chlorure de potassium variable de 0 à 0,9 M. La constance de ses résultats, dans des expériences dont les conditions sont différentes, lui permet de conclure à l'exactitude des équations de réactions correspondantes.

Il donne les valeurs moyennes :

$$K_1 = 10^{-6,07} \quad K_2 = 10^{-7,00} \quad K_3 = 10^{-8,06} \quad K_4 = 10^{-8,51}$$

Il construit un diagramme indiquant les différentes proportions des complexes existant dans une solution du chlorure d'or en fonction de la quantité $pH + pCl$, ($pCl = -\log [Cl^-]$). Les ions Cl^- interviennent en effet au même titre que les protons dans l'équilibre du système.

Il note aussi que les deux premiers chlores du complexe tétrachloroaurique s'échangent très rapidement avec les hydroxyles. Par contre le troisième chlore et surtout le quatrième ne sont éliminés qu'après des temps très longs. Il faut attendre 24 heures pour atteindre l'équilibre après addition d'une quantité de soude suffisante pour substituer le dernier chlore.

BJERRUM signale enfin que les résultats ne sont plus valables pour des concentrations en or nettement supérieures à 0,10 M. Il pense qu'il y a alors formation de complexes polynucléiques.

— Il nous fallait connaître pour la suite de notre travail la composition exacte des solutions d'or à différents pH, et pour cela d'abord définir le chlorure d'or mis en expérience.

Nous utilisons du chlorure d'or brun Prolabo conservé en ampoules scellées. La concentration en or aurique était vérifiée par spectrophotométrie [46].

Nous avons déterminé, en l'absence de sel neutre et après 24 h d'équilibre, les pH d'une gamme de solutions 0,0034 M en Au et de teneur croissante en soude.

Les mesures étaient faites à 20°C avec un pHmètre Philips.

Les résultats sont représentés sur la figure 1.

Nous sommes bien dans la zone de concentrations où les équations d'hydrolyse sont valables. D'après les résultats de BJERRUM on peut dire que la demi-hydrolyse du premier chlore est atteinte

lorsque la solution a un $\text{pH} + \text{pCl}$ égal à pK_1 (soit 6,07) compte tenu de la correction introduite par la force ionique.

Expérimentalement nous constatons que cette valeur est atteinte lorsque l'addition de soude dans le milieu est de 1,2 équivalent. Si notre produit de départ avait répondu à la formule AuCl_4H , 1,5 équivalent eut été nécessaire. Nous devons donc disposer d'un acide chloroaurique dont 3/10 de la première acidité sont neutralisés.

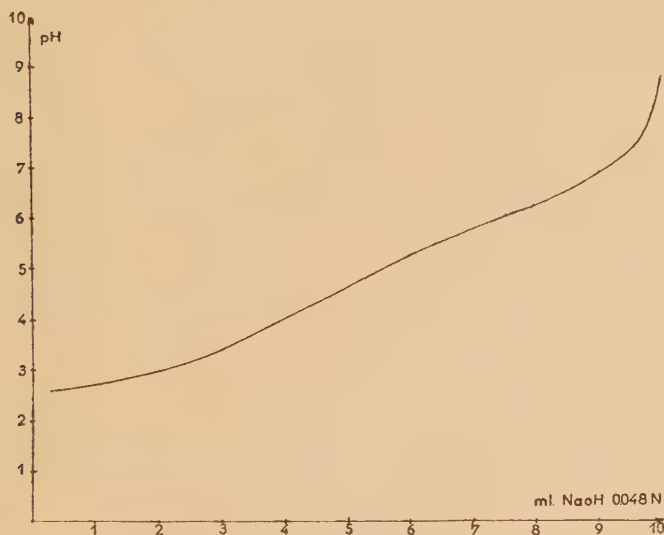


FIG. 1

Tenant compte de ce résultat, nous avons déduit les constantes d'hydrolyse K_2 , K_3 , et K_4 et trouvé respectivement 7,03, 8,06 et 9,1.

La concordance des valeurs de K_2 et K_3 semble vérifier la formule du chlorure aurique mis en expérience. La valeur de la dernière constante d'hydrolyse est plus élevée que celle annoncée par BJERRUM mais ceci doit s'expliquer par le fait qu'il est très difficile d'avoir des systèmes totalement hydrolysés et stables même après un équilibre de 24 heures.

La même expérimentation a été reprise en présence de sel neutre (chlorure de sodium 0,46 M). En tenant compte de la composition précédemment déterminée pour le chlorure d'or nous avons trouvé pour les constantes d'hydrolyse les valeurs suivantes :

$$K_1 = 10^{-6,16} \quad K_2 = 10^{-7,31} \quad K_3 = 10^{-8,31} \quad K_4 = 10^{-9,26}$$

qui nous permettent d'établir le diagramme analogue à celui de BJER-RUM indiquant les différentes proportions des complexes existant dans notre solution d'or en fonction de la quantité $pH + pCl + pf^2$ (figure 2).

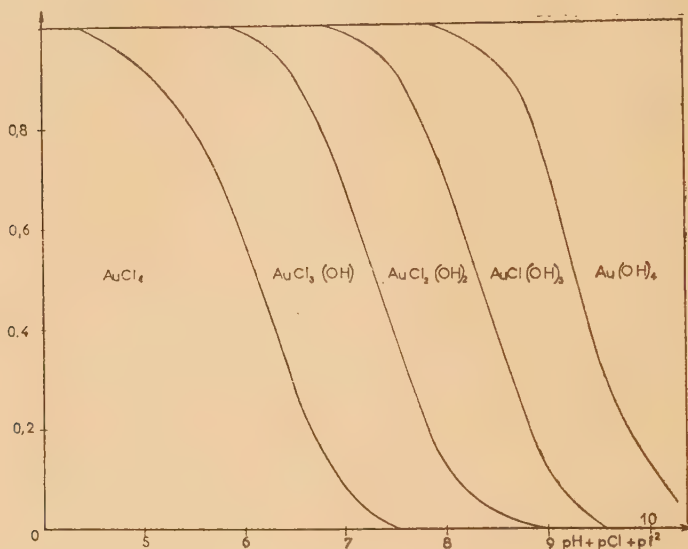


FIG. 2

C'est ainsi que à $pH + pCl = 6,5$ les proportions sont les suivantes :

$AuCl_4^-$	28,5 %
$AuCl_3(OH)^- \dots$	62 %
$AuCl_2(OH)_2^- \dots$	29,5 %

Ces proportions sont modifiées profondément par des écarts relativement faibles de $pH + pCl$.

Pour $pH + pCl = 7$ les proportions deviennent :

$AuCl_4^-$	8,5 %
$AuCl_3(OH)^- \dots$	60,5 %
$AuCl_2(OH)_2^- \dots$	29,5 %
$AuCl_2(OH)_3^- \dots$	1,5 %

Solutions de chlorure d'or : Réduction

Nous avons déjà indiqué qu'à l'état cristallisé le chlorure aurique pouvait perdre du chlore sous l'action du vide et donner du chlorure aureux. Cette tendance est faible en solution, mais elle existe.

Pour préciser ce phénomène de réduction BJERRUM a suivi le potentiel red-ox d'une solution d'acide chloro-aurique à laquelle on ajoute un réducteur type, le sulfite de sodium.

Il prend une solution :

0,00891 M en Au
0,2 M en ClK
0,0219 M en ClH

et il ajoute du sulfite 0,224 M.

Les potentiels sont mesurés aux bornes d'une électrode en platine et d'une électrode au calomel.

On distingue trois étapes :

Dans la première, le potentiel diminue. Il est régi par la transformation $\text{Au}^{+++} \longrightarrow \text{Au}^+$



$$\text{D'où : } E_{3,1} = E_{\text{mes}} + \frac{0,058 \log \frac{[\text{AuCl}_2^-] \cdot [\text{Cl}^-]^2}{[\text{AuCl}_4^-]}}{2}$$

Dans la deuxième phase le potentiel augmente. La solution est sursaturée en or métal qui précipite sur l'électrode en platine.

Le potentiel est alors déterminé par le passage $\text{Au}^+ \longrightarrow \text{Au}$.

$$E_{1,0} = E_{\text{mes}} + 0,058 \log \frac{[\text{Cl}^-]^2}{[\text{AuCl}_2^-]}$$

On atteint un maximum lorsqu'on a versé une molécule de sulfite pour une molécule d'or aurique. Il n'y a plus alors d'or aurique dans le milieu.

Ensuite, c'est une troisième phase. Le potentiel décroît : l'or aureux se réduit en or métal.

Les valeurs moyennes des potentiels ainsi obtenues par BJERRUM sont :

$$\begin{aligned} E_{3,1} &= 0,932 \text{ volt} \\ E_{1,0} &= 1,119 \text{ volt} \end{aligned}$$

ce qui correspond pour la transformation au $\text{Au}^{+++} \longrightarrow \text{Au}$ à 0,994.

Pour les raisons indiquées précédemment, nous avons repris tout d'abord les expériences de BJERRUM en opérant dans des conditions comparables.

Les solutions étudiées avaient la composition suivante :

0,00954 M en Au
0,2 M en ClK
0,02 M en ClH

la solution de sulfite était de 0,25 M.

Toutes les mesures étaient effectuées sous atmosphère d'azote R au moyen d'un pHmètre Philips avec une électrode en platine à 20° C.

Les lectures étaient faites avec une approximation moyenne de 3 millivolts.



FIG. 3

A partir de la figure n° 3 indiquant les valeurs des potentiels trouvés nous avons rassemblé dans le tableau suivant les potentiels normaux d'oxydo-réduction calculés pour différentes valeurs d'équivalent α ; α étant le nombre de moles de sulfite de sodium ajoutées par mole d'acide chloraurique.

Tableau I

α	E_{mes}	$E_{3,1}$	
0,02	1,026	0,939	
0,04	1,016	0,938	
0,06	1,010	0,937	$Au^{+++} \rightarrow Au^+$
0,08	1,006	0,937	
0,1	1,004	0,938	
α	E_{mes}	$E_{1,0}$	
0,2	1,042	1,123	
0,3	1,056	1,127	
0,4	1,064	1,128	
0,5	1,069	1,127	$Au^+ \rightarrow Au$
0,6	1,074	1,128	
0,7	1,078	1,127	
0,8	1,080	1,127	
0,9	1,086	1,130	

La concordance des résultats obtenus pour $E_{3,1}$ et $E_{1,0}$ en fonction de α nous permet de donner comme valeur vraisemblable de ces potentiels :

$$E_{3,1} = 0,938 \text{ volt}$$

$$E_{1,0} = 1,127 \text{ volt}$$

résultats compatibles avec ceux de BJERRUM.

BJERRUM n'avait étudié que la réduction des solutions d'acide chloraurique non hydrolysé. La préparation de l'or colloïdal laisse supposer que l'on a en réalité à faire à des solutions d'acide chloraurique plus ou moins hydrolysé. Nous avons donc étudié la réduction de l'acide chloraurique dans ces conditions mais il faut alors maintenir bien constant le taux d'hydrolyse.

L'addition de sulfite de sodium provoque la libération d'acide chlorhydrique : la présence d'un tampon est donc nécessaire pour éviter les variations importantes de pH.

Les solutions étudiées avaient la composition suivante :

0,00954 M en Au

0,2 M en ClK

0,13 M en tampon phosphate

0,033 M en HoNa

Le pH + pCl était alors voisin de 7, compte tenu de la correction due à la force ionique. Pratiquement, seuls les deux premiers chlores sont alors touchés par l'hydrolyse.

Les valeurs de $E_{3,1}$ et $E_{1,0}$ sont tirées des tableaux obtenus à partir de la courbe des potentiels trouvés en titrant la solution par du sulfite de sodium 0,25 M (figure n° 4).

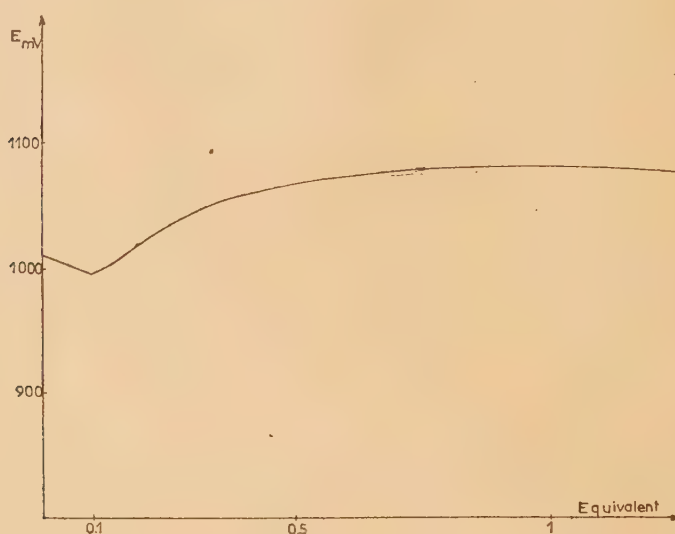


FIG. 4

Tableau II

α	E_{mes}	$E_{3,1}$	
0,02	1,007	0,920	
0,04	1,004	0,926	
0,06	0,999	0,926	$Au^{+++} \rightarrow Au^+$
0,08	0,997	0,928	
0,1	0,995	0,929	
α	E_{mes}	$E_{1,0}$	
0,2	1,020	1,101	
0,3	1,044	1,115	
0,4	1,054	1,118	
0,5	1,063	1,121	$Au^+ \rightarrow Au$
0,6	1,069	1,123	
0,7	1,075	1,124	
0,8	1,077	1,124	
0,9	1,078	1,122	

Les valeurs moyennes des potentiels normaux d'oxydo-réduction de la solution de chlorure d'or hydrolysé sont donc :

$$\begin{aligned} E_{3,1} &= 0,926 \text{ volt} \\ E_{1,0} &= 1,121 \text{ volt} \end{aligned}$$

Nous avons essayé de nous mettre à des pH + pCl encore plus élevés mais les mesures ne sont plus possibles. En effet si la réduction par le sulfite est rapide et totale en milieu acide, en solution alcaline toutefois elle ne mène pas à l'or mais à un aurosulfite conformément à l'équation [45] :



Ceci explique qu'à des pH + pCl très élevés nous n'ayons pu déterminer les potentiels normaux d'oxydo-réduction car la vitesse de la réaction doit être lente et la stabilisation des potentiels ne se produit pas.

Conclusion

La définition d'une solution d'or est donc très délicate car de multiples complexes peuvent y coexister.

On peut cependant caractériser ces complexes par leurs constantes d'hydrolyse et par des potentiels normaux d'oxydo-réduction. Mais il faut noter que l'on ne peut calculer des constantes de dissociation classiques parce qu'on ne peut pas avoir de solutions renfermant des concentrations mesurables d'ions Au^{+++} et Au^+ non complexés.

ÉTUDE POTENTIOMÉTRIQUE DU SYSTÈME OR - GÉLATINE

L'étude physico-chimique précédente des solutions de chlorure d'or nous montre que les complexes qui existent dans ces solutions peuvent être au moins définis par les deux méthodes de mesure :

potentiométrie pH
potentiométrie d'oxydo-réduction.

Ces deux méthodes sont en outre des méthodes générales d'étude des interactions ions-polyélectrolytes. Malheureusement dans le système or-gélatine, l'or se trouve déjà sous forme de complexes anioniques hydrolysables, consommateurs de soude. L'application pure et simple de la méthode de potentiométrie pH à des fins de détermination de constantes de formation de complexes conduit à des résultats très difficilement interprétables car à chaque variation de pH du milieu or-gélatine correspond une modification de la composition de l'anion complexe métallique susceptible de réagir.

Ce même écueil ne se rencontre pas dans l'application de la potentiométrie d'oxydo-réduction où l'on opère en milieu tamponné, mais l'insuffisance des connaissances sur la composition et le comportement de la gélatine ne nous permet pas de pousser très loin l'étude de l'interaction envisagée.

Cependant ces deux méthodes, malgré les insuffisances signalées peuvent être utilisées et l'interprétation des résultats obtenus nous apportera au moins des renseignements utiles sur la possibilité d'existence d'un complexe or-gélatine.

Potentiométrie pH

Pour étudier les interactions métal-protéine par mesure de pH la méthode classique consiste à neutraliser la protéine pure, puis en présence d'ions métalliques dans des conditions de concentrations variables. La fixation du métal modifie le comportement acido-ba-

sique de la protéine. La comparaison des courbes de neutralisation permet en général d'évaluer la liaison.

Mais dans le système or-gélatine, la comparaison des deux courbes de neutralisation nous permettra seulement de savoir si la variation du pH est due uniquement à une réaction d'hydrolyse ou si cette hydrolyse s'accompagne d'une autre réaction.

Pour arriver à cette interprétation encore nous faut-il connaître non seulement la courbe de neutralisation de la gélatine mais encore la courbe de neutralisation du chlorure d'or.

a) *Courbe de neutralisation du chlorure d'or.*

Nous avons une gamme d'une vingtaine de solutions renfermant une quantité globale d'or de $0,7 \cdot 10^{-5}$ mole d'or sous forme de AuCl_4H . Nous avons ajouté de la soude 0,05 M en quantité croissante de 0 à 7 ml, 7 ml étant la quantité nécessaire à la neutralisation des 5 acidités susceptibles d'être fournies par AuCl_4H . Chaque solution était ensuite portée à 20 ml avec une solution de ClNa telle que le milieu était finalement 0,467 M en Cl^- .

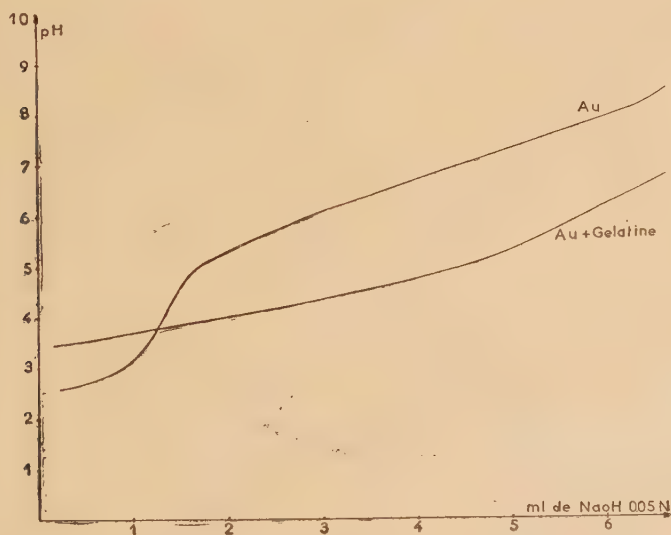


FIG. 5

Pour que l'équilibre d'hydrolyse s'établisse, les derniers Cl^- étant difficilement échangeables avec les OH^- , nous laissons les solutions en repos 24 heures. Les pH étaient pris ensuite.

On a ainsi la courbe de neutralisation analogue à celle établie pour la détermination des constantes d'hydrolyse. (Voir figure n° 5).

b) *Courbe de neutralisation de la gélatine.*

Nous avons mesuré les variations de pH d'une solution contenant 0,24 g de gélatine au $\text{pHi} = 4,8$ dégradée à l'autoclave 20 mn à 120° en solution à 6 %, lorsque nous lui ajoutons de l'acide chlorhydrique 0,05 N et, d'une façon parallèle, de la soude 0,05 N. Les résultats sont portés sur la figure n° 6.

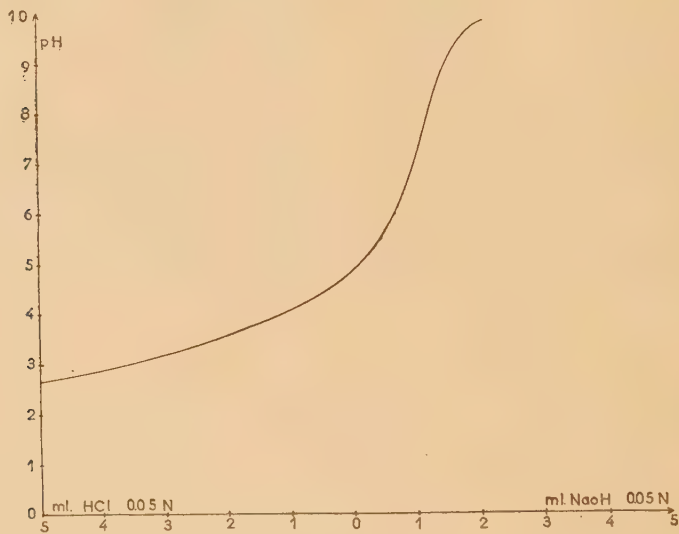


FIG. 6

c) *Courbe de neutralisation des mélanges.*

A chacune des solutions nous ayant servi en a) qui contenaient donc du chlorure aurique à des états d'hydrolyse différents, nous avons ajouté 0,24 g de gélatine (ce qui correspond à 4 cm³ d'une solution à 6 %). Les mélanges obtenus étaient mis au thermostat à 40° pendant 3 heures. On refroidissait ensuite à la température ambiante (20°). On mesurait alors le pH. Les résultats sont donnés par la figure n° 5.

Interprétation :

Dans nos expériences nous mélangions des solutions de pH différents. L'action de la solution de gélatine sur l'or n'est-elle qu'une hydrolyse (ou une rétrogradation d'hydrolyse) ?

Il y a dans nos courbes deux points remarquables.

La solution d'or hydrolysé est à pH 4,8 comme la solution de gélatine. Le mélange prend un pH de 3,85.

Le mélange est à pH 4,8 comme la gélatine alors que la solution d'or initiale était à pH 6,25.

Dans les deux cas il y a eu libération d'acidité.

Essayons d'élargir cette conclusion aux autres états d'hydrolyse. Raisonnons pour cela par l'absurde. Calculons la quantité d'acide ou de soude nécessaire pour amener chacun des constituants pris séparément, or et gélatine au pH du mélange. Nous faisons la somme de ces deux quantités, l'acide étant compté négativement et la soude positivement. Cette somme représente la quantité de soude (qui peut être négative) théoriquement nécessaire pour avoir un mélange à un pH tel que celui obtenu expérimentalement, en supposant que la gélatine ajoutée à la solution d'or n'ait qu'un simple effet d'hydrolyse.

La comparaison de cette quantité théorique avec la soude effectivement mise dans le milieu montre que notre hypothèse est fausse.

En effet, soit par exemple le mélange de pH 4. Il devrait résulter de l'addition de gélatine pH4 à de l'or pH4. La gélatine pH4 s'obtient en ajoutant 1,1 cm³ de HCl 0,05 N aux 4 cm³ de gélatine à 6 %. L'or pH 4 s'obtient, lui, en ajoutant 1,32 cm³ de soude aux 7,10⁻⁵ moles d'or en réaction. Le mélange pH4 devrait s'obtenir en mélangeant or, gélatine et 1,32 — 1,1 = 0,22 cm³ de NaOH 0,05 N. Or expérimentalement, nous avons mis 2 cm³ de Na OH. Il y a donc eu apparition de 2 — 0,22 = 1,78 cm³ d'acide inexpliquée en considérant un simple effet d'hydrolyse.

Ce même calcul peut se faire pour toute notre gamme.

La quantité théorique est toujours inférieure à la quantité réellement ajoutée : la variation de pH n'est donc pas due à un simple effet d'hydrolyse.

Potentiométrie d'oxydo-réduction

Les expériences précédentes nous ont montré que dans les mélanges or-gélatine, les variations de pH mesurées ne s'expliquent pas par hydrolyse seule.

Avant de conclure à une liaison possible, nous avons voulu savoir si la libération d'acidité ne pouvait pas simplement résulter d'un phénomène de réduction car la gélatine est signalée comme agent réducteur.

Nous avons donc mesuré les potentiels sous atmosphère d'azote R aux bornes d'une électrode en or et d'une électrode au calomel saturés en ClK. Les lectures étaient corrigées de la valeur du potentiel normal de l'électrode de référence.

Comme lors des mesures faites sur le système or-sulfite de sodium, nous nous sommes placés en milieu non hydrolysé puis vers $\text{pH} + \text{pCl} = 6,5$.

— *En milieu non hydrolysé :*

Nous avons une gamme de solutions :

0,0031 M en Au

0,1 M en ClK

0,02 M en HCl

et de teneur variable en gélatine entre 0 et 5 %.

Ces solutions étaient placées au thermostat à 40° . Elles étaient refroidies avant chaque mesure. Nous avons suivi leur évolution pendant plusieurs jours. Les résultats sont donnés figure 7.

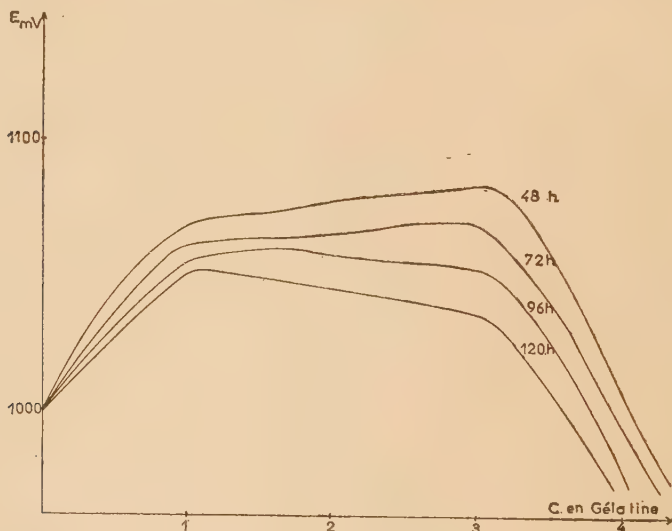


FIG. 7

— *En milieu hydrolysé :*

Les conditions d'opération étaient les mêmes que précédemment. Mais, ici, la présence d'un tampon était nécessaire. Les solutions étaient :

0,0034 M en Au

0,2 M en ClK

0,01 M en NaOH

0,066 M en phosphate

La concentration en gélatine variait de 0 à 4 %. La figure n° 8 rend compte de nos résultats.

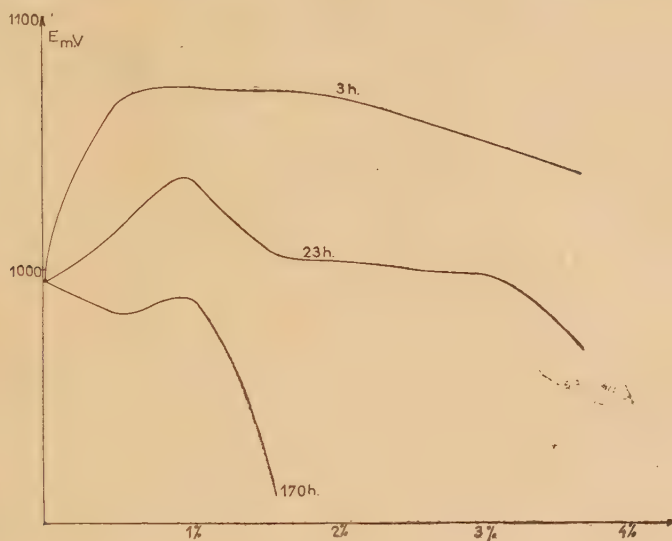


FIG. 8

Interprétation :

Les courbes obtenues montrent d'abord que les potentiels ne se fixent pas. Les solutions laissent, avec le temps apparaître de l'or métallique sous forme de dépôt sur les parois du flacon qui les contient, ou bien sous forme de miroir en surface, ou encore il se forme de l'or colloïdal. Et ceci se produit même dans les premières solutions de la gamme où il y a relativement peu de gélatine et où le potentiel reste élevé. Cette présence d'or métallique prouve la capacité qu'a la gélatine de réduire le chlorure aurique jusqu'au stade or sans qu'il soit besoin de faire appel aux mesures de potentiel.

La comparaison des courbes obtenues après addition de gélatine avec celles obtenues lors de l'addition du sulfite de sodium est tout de même intéressante.

Remarquons d'abord que pour les expériences faites avec la gélatine nous n'avons pas utilisé, comme dans le cas de l'étude avec le sulfite de sodium, une électrode de platine mais une électrode en or. Cela parce que chaque pointé était fait dans une solution différente où les conditions de précipitation de l'or sur le platine devaient être plus ou moins bien remplies suivant les cas. Nos courbes doivent donc traduire le potentiel du système $\text{Au}^+ \rightarrow \text{Au}$.

En milieu non hydrolysé l'allure générale est la même qu'avec le sulfite. Les mesures faites 48 h après mélange montrent un maximum assez net qui se maintient approximativement avec le temps. Par analogie avec le système or-sulfite nous pouvons alors dire qu'il y a en ce point un équivalent de gélatine qui a transformé tout l'or aurique en or aureux. Si l'on applique à la courbe obtenue après 48 h de contact l'équation :

$$E_{1,0} = E_{\text{mes}} + 0,058 \log \frac{[\text{Cl}^-]^2}{[\text{AuCl}_2^-]} \quad (\text{I})$$

on trouve pour 2/6 d'équivalent $E_{1,0} = 1,133$ volt

3/6	»	»	1,125	»
4/6	»	»	1,125	»
5/6	»	»	1,123	»

ce qui donne pour le passage aureux-or une valeur de potentiel bien comparable à celle que l'on obtient avec le sulfite de sodium.

« L'équivalent » gélatine serait alors tel que 1 g de gélatine ferait passer $9,10^{-5}$ moles d'or de l'état aurique à l'état aureux.

Ajoutons cependant que ces valeurs ne sont que des ordres de grandeurs. En effet, comme nous l'avons déjà dit, les potentiels évoluent avec le temps et de l'or précipite dans le milieu ce qui modifie la concentration totale en or.

Il n'en reste pas moins que la gélatine semble, lorsque l'acide chloraurique n'est pas hydrolysé, avoir une action superposable à celle de sulfite.

En milieu partiellement hydrolysé, l'évolution des potentiels est bien plus rapide. De même l'or apparaît beaucoup plus facilement sous forme métallique. Il s'ensuit une précipitation rapidement importante et une baisse non négligeable de la concentration en or de la solution. La limite de validité des mesures est donc assez restreinte dans le temps ; aussi avons-nous pris pour nos calculs la courbe des potentiels après 3 heures de mélange.

On observe comme dans les cas précédents une augmentation du potentiel puis une diminution lorsque la quantité de gélatine croît.

Le maximum semble se situer lorsqu'il y a 1 g de gélatine pour $35,10^{-5}$ moles d'or. La gélatine aurait donc un pouvoir réducteur plus élevé qu'en milieu non hydrolysé.

À partir de ces valeurs expérimentales, l'application de l'équation (I) donne :

Pour 2/6 d'équivalent $E_{1,0} = 1,125$ volt

3/6	»	»	1,128	»
4/6	»	»	1,128	»
5/6	»	»	1,127	»

On retrouve donc toujours la même valeur de potentiel. Mais il faut ici encore ne pas oublier la valeur toute relative de ces chiffres.

Ils ne sont valables que trois heures après mélange et après une certaine histoire thermique pour des concentrations données.

On peut quand même conclure d'après nos mesures faites en milieu hydrolysé qu'il y a ici aussi une analogie de comportement entre le système or-gélatine et le système or-sulfite de sodium. Mais le pouvoir réducteur de la gélatine est beaucoup plus important qu'à $\text{pH} + \text{pCl}$ plus bas. D'autre part, lorsqu'on suit l'évolution dans le temps des potentiels on voit que les valeurs élevées décroissent beaucoup plus vite qu'en milieu non hydrolysé.

Ces expériences de potentiométrie d'oxydo-réduction nous montrent que quel que soit l'état d'hydrolyse des solutions de chlorure d'or, la gélatine se comporte comme réducteur. Les valeurs des potentiels $E_{1,0}$ du système or-gélatine en milieu hydrolysé et non hydrolysé ne sont pas significativement différentes de celles du système or-sulfite. On peut donc penser que la réaction or-gélatine n'est qu'une réaction de réduction sans liaison.

Cependant si l'on considère l'évolution importante de ces potentiels principalement en milieu hydrolysé, la possibilité de la liaison ne peut être exclue.

Ainsi les deux méthodes de potentiométrie pH et oxydoréduction ne nous apportent pas, comme cela était d'ailleurs prévisible, des renseignements suffisants pour conclure à l'existence d'un complexe entre l'or et la gélatine.

Pour arriver à lever l'incertitude nous avons été amenés à choisir une méthode qui permettrait de suivre non pas uniquement la modification d'une propriété du système mais encore l'apparition directe d'une nouvelle propriété due au complexe formé lui-même. C'est ainsi que nous avons utilisé la méthode spectrophotométrique.

ÉTUDE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU SYSTÈME OR - GÉLATINE

La spectrophotométrie est, nous l'avons vu, une méthode d'étude des complexes ; mais encore faut-il qu'au moins l'un des constituants du mélange possède un spectre d'absorption caractéristique.

Or, dans le système étudié, cette condition était remplie.

En effet, si la gélatine ne présente pour les concentrations que nous emploierons, qu'une absorption très faible et presque toujours négligeable, l'acide chloraurique AuCl_4H présente selon VIDRA et CELIKOVSKY [46] une bande d'absorption située dans l'U.V. entre 2 700 Å et 3 500 Å, caractéristique de l'ion $\text{Cl}_4 \text{Au}^-$, le maximum d'absorption se trouvant à 3 115 Å.

Avant d'aborder le problème de l'interaction or-gélatine, il nous fallait donc au préalable étudier les modifications apportées au spectre d'absorption au cours de l'hydrolyse et de la réduction.

Spectrophotométrie des chlorures d'or

Toutes nos mesures sont faites avec un spectrophotomètre Graphi-Spectral Jouan enregistreur. Les cuves en quartz utilisées avaient 0,5 cm d'épaisseur afin de ne pas être obligé de travailler sur des dilutions trop grandes.

Hydrolyse :

Les spectres d'absorption ont été déterminés pour diverses solutions de chlorure d'or, en présence de ClNa 0,2 M à divers états d'hydrolyse. Pour toutes ces solutions la concentration molaire en or était de 0,00035 M. Le tableau suivant donne les états d'hydrolyse.

Solution n°	pH + pCl + pf ²	% AuCl ₄ ⁻	% AuCl ₃ (OH) ⁻	% AuCl ₂ (OH) ₂ ⁻	% AuCl(OH) ₃ ⁻	% Au(OH) ₄ ⁻
1	4,84	94,5	5,5	0	0	0
2	5,97	60	39	1	0	0
3	7,09	6,5	57	34	2,5	0
4	7,97	0	13	59,5	27	1
5	8,57	0	1,5	31	56	11,5
6	9,07	0	0	9,5	55	35,5

Les spectres d'absorption de ces six solutions sont représentés dans la figure n° 9.

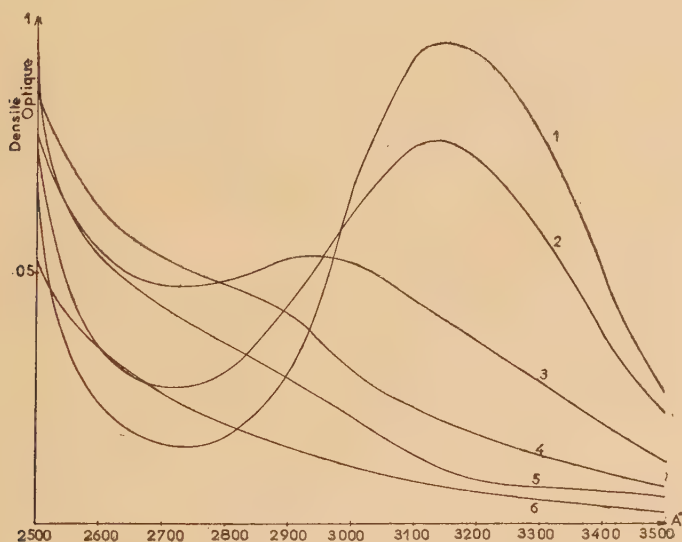


FIG. 9

On retrouve dans le spectre de la solution 1, qui ne renferme pratiquement que l'ion Cl_4Au^- le maximum d'absorption caractéristique de cet ion.

Si l'on considère le spectre d'absorption de la solution 2 qui ne renferme que 60 % d'ions Cl_4Au^- , on constate non seulement une diminution de la densité optique de la bande d'absorption mais encore un déplacement du maximum d'une dizaine d'angströms.

Même en négligeant ce déplacement de la bande on voit que la diminution de la densité optique ne suit pas la loi de LAMBERT-BEER si l'on ne tient compte que de la diminution de la concentration en Cl_4Au^- . Il faut donc penser que l'absorption des produits d'hydrolyse entre en jeu.

Effectivement, si l'on considère les spectres U. V. des solutions 3, 4, 5 et 6, on constate au fur et à mesure que l'hydrolyse s'accroît, une disparition de la bande caractéristique de l'ion chloraurique Cl_4Au^- et un déplacement de cette bande vers les petites longueurs d'onde.

En outre à partir de nos mesures expérimentales il est possible puisque l'on connaît la composition de chaque mélange, d'établir le spectre d'absorption propre à chaque produit d'hydrolyse. Mais ce calcul ne peut être qu'approximatif car de faibles écarts de $\text{pH} + \text{pCl} + \text{pf}^2$ se traduisent par des modifications importantes dans la composition des solutions et par conséquent des spectres d'absorption calculés. Le facteur pf^2 est important (0,62) et son calcul est tiré de la formule de GUGGENHEIM qui n'est pas rigoureuse.

Quoiqu'il en soit, les solutions de chlorure d'or peuvent être caractérisées spectrophotométriquement quel que soit leur état d'hydrolyse.

Réduction

Dans le système qui nous intéresse nous avons vu que le chlorure d'or est réduit par la gélatine et cette réduction doit logiquement entraîner une modification des spectres d'absorption.

Pour faire ultérieurement dans l'étude des mélanges la part de la réduction et celle d'une liaison possible dans les changements spectrophotométriques, il est nécessaire d'étudier l'effet d'un réducteur type tel le sulfite de sodium sur l'absorption de l'or hydrolysé ou non.

Les mesures spectrophotométriques faites sur les mélanges de chlorure d'or et de sulfite de sodium dans des rapports $\text{SO}_3\text{Na}_2/\text{chlorure d'or}$ connus et croissants montrent que l'allure des spectres d'absorption est conservée et que la densité optique décroît régulièrement pour toutes les longueurs d'onde dans un même rapport.

La diminution de la densité optique suit approximativement la loi de LAMBERT-BEER et les écarts observés sont uniquement dus à la mauvaise définition du titre des solutions de sulfite nécessairement très diluées les conditions expérimentales ne nous permettant pas en outre d'opérer sous azote.

Ces divers points étant précisés, nous pouvons aborder l'étude spectrophotométrique des mélanges or-gélatine.

Spectrophotométrie des mélanges chlorures d'or-gélatine

Le principe de la méthode spectrophotométrique d'étude des complexes est trop connue pour être rappelé ici.

A des solutions d'acide chloraurique de $pH + pCl$ connus nous ajoutons des quantités croissantes de gélatine et déterminons ensuite le spectre d'absorption dans l'U.V. dans des conditions analogues à celles utilisées pour l'étude spectrophotométrique des chlorures d'or hydrolysés ou réduits.

Deux solutions d'acide chloraurique ont été ainsi étudiées : une correspondant à l'acide chloraurique non hydrolysé, l'autre de $pH + pCl + pf^2$ égal à 6,5 ayant la composition suivante :

$AuCl_4^-$	28,5 %
$AuCl_3(OH)^- \dots$	62 %
$AuCl_2(OH)_2^- \dots$	9,5 %

a) Spectre d'absorption du mélange gélatine-or non hydrolysé.

Les solutions utilisées étaient :

0,00034 M en Au
0,2 M en ClK
0,02 M en ClH

Les concentrations en gélatine varient de 0 à 0,38 %.

De l'examen des résultats obtenus il ressort essentiellement les points suivants :

La présence de gélatine ne modifie pas l'allure générale des spectres d'absorption. On note seulement une très légère augmentation de la densité optique vers 2 700 Å, augmentation qui est explicable par l'absorption propre de la gélatine dans cette région. (Voir figure n° 10).

L'addition de quantité croissante de gélatine se traduit par une diminution progressive de l'intensité de la bande d'absorption à 3 100 Å caractéristique de l'ion tétra-chloraurique. La gélatine a donc qualitativement le même effet que le sulfite de sodium qui transforme le chlorure aurique en chlorure aureux, celui-ci ayant une absorption nulle.

La gélatine aux concentrations utilisées n'absorbant pratiquement pas dans cette région, nous avons représenté les variations de la densité optique à 3 100 Å dans des mélanges en fonction de la quantité de gélatine ajoutée à une même quantité d'or. Cette représentation est linéaire. (Voir figure n° 11).

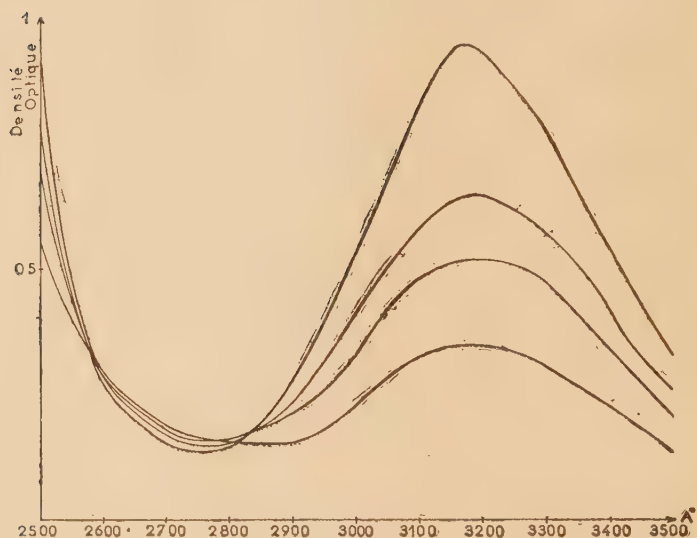


FIG. 10

Spectres d'absorption de mélanges or-gélatine en milieu non hydrolysé. La concentration en or reste constante (0,00034 M), la concentration en gélatine varie (0 ; 0,19 % ; 0,28 % ; 0,38 %).

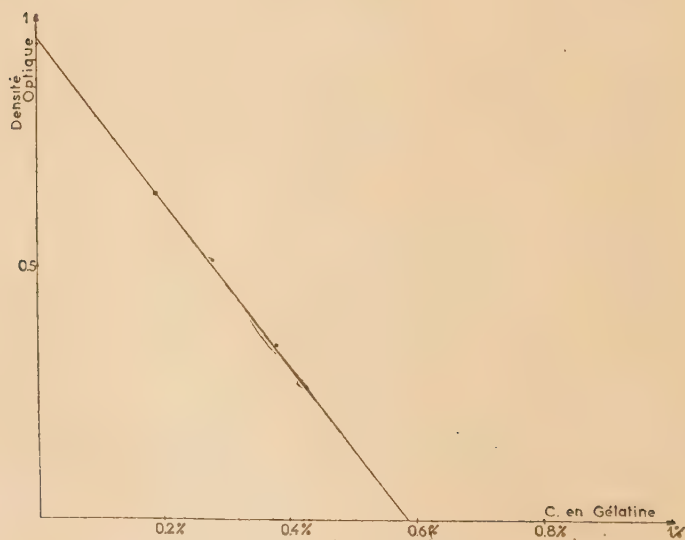


FIG. 11

Par extrapolation on trouve que 1 g de gélatine fait disparaître totalement l'absorption due à $6,10^{-5}$ moles d'or aurique.

Notons enfin que pendant plus de 24 heures les solutions sont stables et conduisent au même spectre d'absorption.

b) *Spectre d'absorption en milieu $pH + pCl = 6,5$.*

L'absorption de l'or étant moins importante nous pouvions avoir des solutions un peu plus concentrées.

On opérait en milieu :

0,00056 M en Au.

0,2 M en ClK.

0,066 M en tampon phosphate.

L'addition de gélatine modifie totalement, dans ce cas, l'allure du spectre comme on peut le voir avec la figure n° 12.

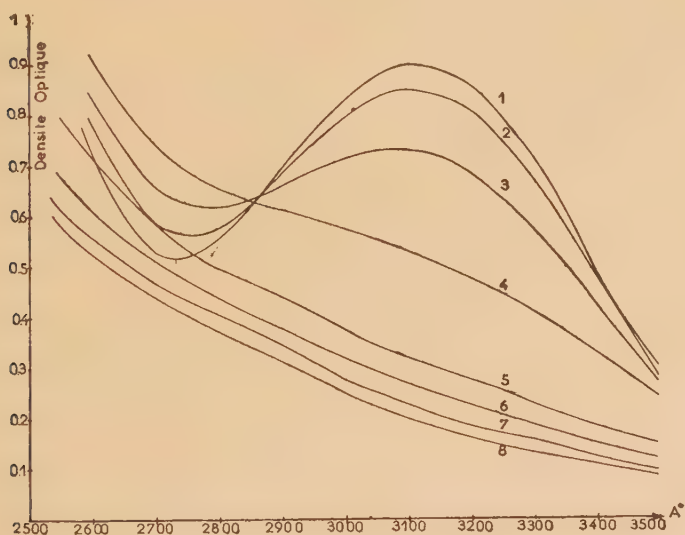


FIG. 12

Spectres d'absorption de mélanges or-gélatine en milieu hydrolysé. La concentration en or reste constante (0,00056 M), la concentration en gélatine varie (0 ; 0,02 % ; 0,05 % ; 0,10 % ; 0,20 % ; 0,29 % ; 0,38 % ; 0,48 % respectivement pour les solutions 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8), 5 heures après mélange.

Lorsque la quantité de gélatine croît, on peut essentiellement distinguer deux stades :

D'abord, pour de faibles teneurs en gélatine, l'absorption décroît à $3\,100\text{ \AA}$ et augmente dans la zone $2\,600$ à $2\,800\text{ \AA}$. À signaler la présence d'un point isobestique vers $2\,850\text{ \AA}$. La bande caractéristique de l'or aurique disparaît donc progressivement.

Lorsqu'elle a disparu, il y a un nouveau stade où l'augmentation de la concentration en gélatine provoque une diminution d'absorption dans toute l'étendue des longueurs d'onde étudiées.

Si l'on représente les variations de la densité optique à $3\,100\text{ \AA}$, en fonction de la concentration en gélatine pour une même quantité de chlorure d'or, les points représentatifs se trouvent alignés sur deux droites concourantes en un point dont l'abscisse définit la concentration en gélatine limitant les deux stades. (Figure n° 13).

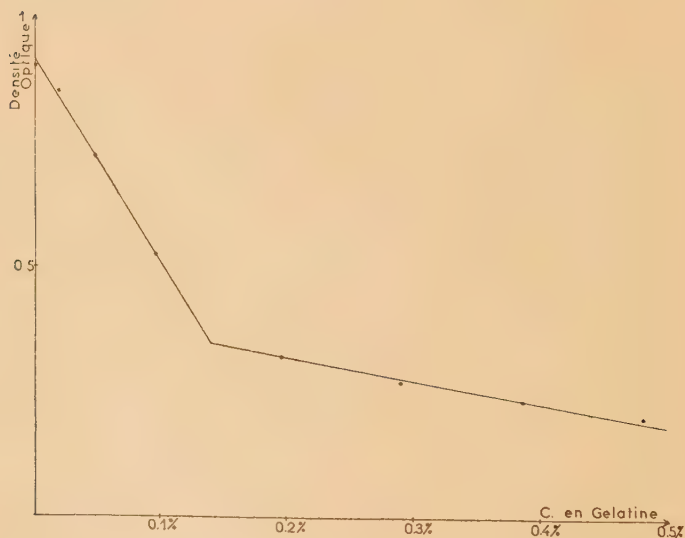


FIG. 13

Ces deux stades apparaissent lorsque les spectres sont pris 5 heures après mélange. La limite entre les deux stades se situe lorsqu'il y a 1 g de gélatine pour $39,10^{-5}$ moles d'or.

Avec le temps les spectres évoluent (figure n° 14). Le temps semble agir qualitativement comme si la quantité de gélatine du milieu augmentait. Dans le premier stade la densité optique croît au-

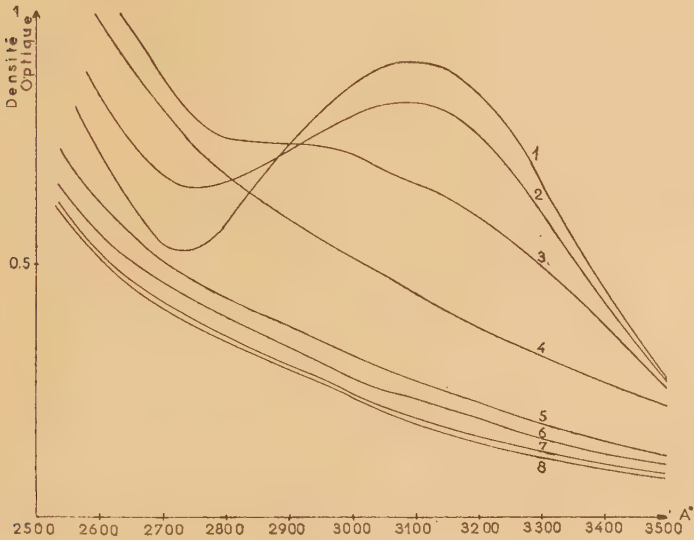


FIG. 14

Spectres d'absorption des mêmes solutions que dans la figure 12, mais les mesures sont faites 24 heures après mélange.

tour de 2 700 Å et décroît à 3 100 Å. Le point isobestique tend à disparaître. Dans le deuxième stade l'absorption diminue pour toutes les longueurs d'onde envisagées et finalement de l'or colloïdal apparaît d'autant plus rapidement qu'il y a plus de gélatine.

CONCLUSION

DES MESURES POTENTIOMÉTRIQUES ET SPECTROPHOTOMÉTRIQUES

L'étude de l'équilibre acido-basique des mélanges gélatine-solutions d'or nous montre que l'addition de la gélatine à une solution de chlorure aurique ne se traduit pas par un simple effet d'hydrolyse. Elle nous permet de conclure que la gélatine a une action plus directe sur l'or.

Les mesures de potentiel d'oxydo-réduction nous montrent une analogie de comportement entre la gélatine et le sulfite de sodium, c'est-à-dire que la gélatine réduit l'or.

Nous retrouvons d'autre part le potentiel normal caractéristique de la réaction d'électrode $\text{AuCl}_2^- \longrightarrow \text{Au}$. Il doit donc dans le milieu se former du chlorure aureux et non un autre complexe aureux. Il nous faut toutefois distinguer deux cas :

— En milieu non hydrolysé nous avons pu calculer le potentiel normal sur des mélanges conservés pendant 48 heures au thermostat à 40°. AuCl_2^- est donc resté stable pendant ce laps de temps. Par la suite les potentiels diminuent, mais lentement. C'est une évolution normale étant donnée l'instabilité des chlorures aureux qui ont tendance à se dismuter en sels auriques et en or métallique.

— En milieu hydrolysé c'est seulement 3 heures après mélange que nous trouvons le potentiel normal $\text{AuCl}_2^- \longrightarrow \text{Au}$ et les potentiels diminuent ensuite rapidement. Cela peut encore être expliqué par la réaction de dismutation mais l'évolution nous semble bien rapide.

Lorsqu'ils ne sont pas en milieu acide fort, les chlorures aureux peuvent donner d'autres complexes aureux (auro-sulfite par exemple). Nous pourrions donc avoir avec la gélatine formation d'un complexe aureux de potentiel normal plus faible, donc plus stable que le chlorure aureux. Il ne nous est pas possible de contrôler quantitativement cette hypothèse car aux concentrations étudiées la dismutation existe de toute façon puisque de l'or métallique précipite ; il est donc impossible de connaître la concentration de l'or resté en solution.

La spectrophotométrie se distingue d'abord des deux méthodes précédentes parce qu'elle nous oblige à travailler sur des dilutions près de dix fois plus fortes.

En milieu non hydrolysé, elle nous montre aussi une analogie de comportement entre la gélatine et le sulfite de sodium. Il semble donc bien que dans un tel milieu on assiste à une réduction pure et simple du chlorure aurique par la gélatine avec formation de chlorure aureux puis d'or métallique. L'écart entre la valeur de 9.10^{-5} moles d'or réduit de l'état aurique en l'état aureux par 1 g de gélatine, valeur trouvée par potentiométrie, et la valeur 6.10^{-5} moles trouvée par spectrophotométrie n'est pas surprenant. Les concentrations étudiées sont, nous l'avons dit, totalement différentes et les mesures de spectrophotométrie ne pouvaient être faites sous azote. Ces chiffres doivent être pris uniquement comme ordre de grandeur.

En milieu hydrolysé, la méthode spectrophotométrique nous confirme ce que les mesures de potentiels d'oxydo-réduction ne pouvaient que nous faire supposer. Il y a formation d'un nouveau complexe d'or puisque le spectre d'absorption est modifié.

L'existence d'un point isobestique traduit de plus qu'il y a proportionnalité entre la quantité de chlorure aurique disparu et la quantité de complexe formé. Ce complexe ne peut être aurique car la fin du premier stade correspond au rapport or-gélatine trouvé par potentiométrie pour la fin du passage aurique-aureux.

Dans la deuxième phase on assiste à la réduction du complexe aureux jusqu'au stade métallique. La précipitation de l'or est lente à cause de la faible concentration du milieu.

En résumé, nos expériences nous permettent de conclure :

— à une réduction pure et simple du chlorure aurique par la gélatine lorsqu'il n'y a pas d'hydrolyse de l'anion complexe,

— à une réduction suivie de la formation d'un complexe nouveau, par réaction de la gélatine oxydée avec l'or aureux, lorsque l'anion aurique mis en expérience a subi une hydrolyse.

LES GROUPEMENTS RESPONSABLES DE LA COMPLEXION

DISCUSSION ET PREUVES EXPÉRIMENTALES

Nous venons de voir qu'il ressort principalement de nos expériences que la gélatine a un effet réducteur sur le chlorure d'or, que cet effet est faible aux pH très acides, qu'il est plus important et s'accompagne de la formation d'un complexe or-gélatine en milieu hydrolysé.

Il nous faut essayer d'expliquer ces faits en fonction de la structure de la molécule de gélatine.

La composition de la gélatine est connue. C'est une macromolécule linéaire. POURADIER [47] donne la liste des acides aminés qui la constituent et leurs proportions.

Il est à remarquer une teneur élevée en glycolle et en hydroxyproline et l'absence de cystine.

Cette composition doit expliquer le comportement de la gélatine vis-à-vis du chlorure d'or.

Deux phénomènes ont été mis en évidence :

- oxydation de la gélatine par le chlorure d'or et
- interaction proprement dite.

Nous allons les discuter séparément.

Oxydation de la gélatine par le chlorure d'or

Notons d'abord qu'à côté des acides aminés, LANDUCCI, POURADIER et DURANTE [48] signalent dans la molécule de gélatine des restes uroniques, des fonctions aldéhydes, qui pourraient être facilement

oxydées ; mais elles sont en faible quantité. Il faudrait en effet, en mettant les choses au mieux, 20 g de gélatine pour faire passer 10^{-4} moles d'or de l'état aurique à l'état aureux si les aldéhydes intervenaient seuls.

D'autres fonctions propres aux acides aminés constitutifs doivent donc entrer en jeu dans nos expériences. Trois types de fonctions peuvent se rencontrer libres dans les molécules de gélatine :

les fonctions alcools
» carboxyles
» azotées basiques.

a) *Oxydations des fonctions alcools*

Certains auteurs ont étudié l'action des oxydants sur la gélatine et mis en relief une oxydation préférentielle sur les aminoacides alcools tels la sérine, la thréonine, l'hydroxyproline, l'hydroxylysine.

GALLOP [49] en effet, a montré l'oxydation très forte de la gélatine par l'eau oxygénée. Il note une dégradation de la molécule avec coupure possible au niveau des résidus de sérine et de thréonine. Pour lui, cependant, c'est surtout l'hydroxyproline qui subit l'oxydation : une coupure à son niveau semble probable mais n'est pas certaine. Par contre il expliquerait une augmentation d'absorption de la gélatine dans l'U.V. après oxydation, par l'apparition de doubles liaisons dans le noyau pyrrole et par la formation de fonctions-COOH latérales.

D'autre part GUSTAVSON [50] étudiant l'oxydation du collagène par le périodate de sodium a montré également la dégradation de cette molécule. L'hydroxyproline, ici, ne serait pas touchée mais l'oxydation intéresserait surtout l'hydroxylysine, ce qui est également en accord avec les conclusions de DESNUELLES [51].

Il est probable que cette action sur les fonctions alcools n'exclue pas l'oxydation des groupements basiques signalée par d'autres auteurs.

b) *Oxydation des fonctions azotées basiques*

Pour expliquer l'action de l'hypobromite, DAVIS [52] insiste surtout sur la vulnérabilité des groupements guanidiques à l'oxydation.

D'autre part, POLONOWSKI [53], HENKEN et SCHUNK [54] ont fait de l'action de l'hypochlorite qui, comme le chlorure aurique est un oxydant chloré, sur les produits biologiques une méthode de dosage des acides aminés. Par la suite CRISTOL, BÉNÉZECH et CRASTES DE PAULET [55] ont discuté le mécanisme probable de cette réaction en traitant par la chloramine T, générateur d'hypochlorite, des polypeptides. Ils ont montré que cette action aboutissait à la formation d'une

imine qui s'hydrolysait avec plus ou moins de facilité suivant les radicaux présents. En outre cette réaction n'a lieu qu'en milieu alcalin.

c) *Oxydation des groupes carboxyles*

La fonction carboxyle est difficilement oxydable. Il est très peu probable qu'elle joue un rôle lors de l'oxydation de la gélatine. En tout cas nous n'avons pas trouvé d'exemple d'un tel rôle dans la littérature.

Nos résultats ne nous permettent pas de savoir si le chlorure aurique agit sur telle ou telle fonction. Il faudrait faire une analyse systématique et comparative de tous les acides aminés constitutifs avant et après réactions avec l'or et nous n'avions pas les moyens de le faire. Par contre nous avons pu mettre en évidence et confirmer par diffusion lumineuse le phénomène de dégradation dû à l'oxydation de la gélatine probablement au niveau des amino-acides alcools. Nous reviendrons ultérieurement sur ce point.

Interaction de la gélatine et du chlorure d'or

Dans les exemples précédents la réaction d'oxydo-réduction n'était pas suivie d'une interaction. En effet l'oxydation de la protéine était surtout faite avec des sels de sodium, hypochlorite, hypobromite, périodate ; le sodium étant un ion difficilement complexable, une liaison solide avec la gélatine était peu probable.

Par contre, l'or ionique donne très facilement des complexes ; on peut donc s'attendre à ce que l'oxydation de la gélatine s'accompagne alors d'une interaction.

GUSTAVSON [56] en particulier a montré l'interaction du collagène avec certains sels tels les chlorures basiques de chrome et le sulfate de zirconium.

De même BORASKY [57], d'une façon plus générale a indiqué la réactivité du collagène à l'égard de nombreux métaux. Il a souligné que les métaux existant sous forme d'ions simples ne se combinent pas avec le collagène, alors que les complexes anioniques métalliques se lient facilement.

Cependant, les fonctions intéressées par la liaison varient selon les cas. Si les sels basiques de chrome interagissent avec le collagène par l'intermédiaire des groupements carboxyles, les complexes anioniques du zirconium se lient principalement au groupe guanidine du résidu arginine de la protéine, un petit nombre seulement se combinant avec les carboxyles.

Tous ces faits concourent à penser que le chlorure d'or peut se lier à la gélatine par l'intermédiaire des groupements acides ou basiques de la protéine. Pour lever cette incertitude il convenait donc d'étudier l'interaction de chlorure d'or soit avec une polybase soit avec un polyacide en utilisant la méthode spectrophotométrique qui nous avait permis de confirmer l'existence du complexe or-gélatine.

SYSTÈME CHLORURE D'OR - ACIDE POLYACRYLIQUE.

Nous avons déterminé au moyen du spectrophotomètre Graphi-Spectral Jouan les spectres d'absorption dans l'ultra-violet de divers mélanges d'acide polyacrylique et de chlorure d'or en milieu non hydrolysé et à $\text{pH} + \text{pCl} + \text{pf}^2 = 6,5$

La concentration en or était de 0,00056 M pour toutes les solutions. Celle de l'acide polyacrylique variait de 0,004 à 0,016 %.

Dans tous les cas les spectres d'absorption du chlorure d'or ne subissaient aucune modification montrant ainsi que dans ces conditions aucune liaison entre les groupements —COOH et le chlorure d'or ne se produisait.

SYSTÈME CHLORURE D'OR - POLYVINYLAMINE

Les spectres d'absorption étaient pris toujours dans les mêmes conditions, mais les cuves ici avaient 1 cm d'épaisseur.

En milieu non hydrolysé, nous avons comparé une solution :

0,00014 M en Au
0,2 M en ClK
0,02 M en ClH

avec solution analogue mais renfermant en plus 0,004 pour 100 de P.V.A. Il y a ainsi près de 4 NH_2 pour 1 Au.

On notera (fig. 15) que l'allure générale du spectre d'absorption de l'ion chloroaurique n'est pratiquement pas modifiée par l'addition de P.V.A.

Quant à la valeur absolue de la densité optique, elle passe à 3 100 Å de 0,71 à 0,55 alors qu'à 2 700 Å elle passe de 0,075 à 0,12. L'absorption de la P.V.A. est négligeable à ces concentrations là.

On peut conclure qu'il y a disparition de chlorure aurique, disparition notable mais pas très importante tout de même (moins de 1/5 de la quantité mise en solution). Par contre s'il y a apparition d'un composé absorbant à 2 700 Å c'est en très faible quantité.

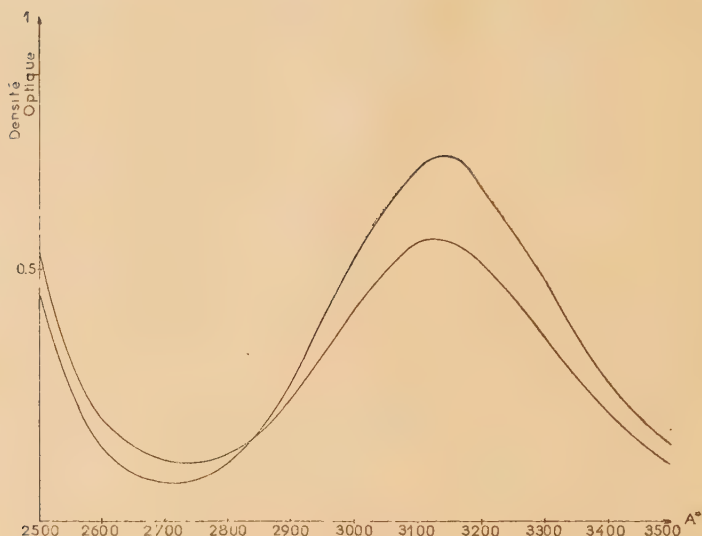


FIG. 15

Spectre d'absorption d'une solution d'or (0,00014 M)
avec et sans polyvinylamine (0,004 %) en milieu non
hydrolysé.

Il y a donc analogie de comportement entre la P.V.A. et la gélatine dans ces conditions expérimentales.

— A *pH* plus élevé :

Nous n'avons pas pu nous placer en milieu tamponné comme nous l'avions fait pour la gélatine car les phosphates précipitent avec la P.V.A. Nous avons opéré sur des solutions analogues à celles étudiées précédemment mais exemptes d'acide chlorhydrique. Les concentrations étaient donc :

0,00014 M pour l'or
0,2 M pour ClK
0 à 0,004 % pour la P.V.A.

Le pH, qui était de 1,8 en milieu HCl, varie ici de 4 à 3,3.

Bien que le pH soit encore bas et que l'acide chloraurique soit peu hydrolysé, nous retrouvons, comme pour l'interaction gélatine-or hydrolysé, deux stades. (Fig. 16).

D'abord, la densité optique décroît à 3100 Å et augmente à 2700 Å.

Ensuite lorsque la concentration en P.V.A. augmente, la densité optique décroît dans toute l'étendue du spectre considérée.

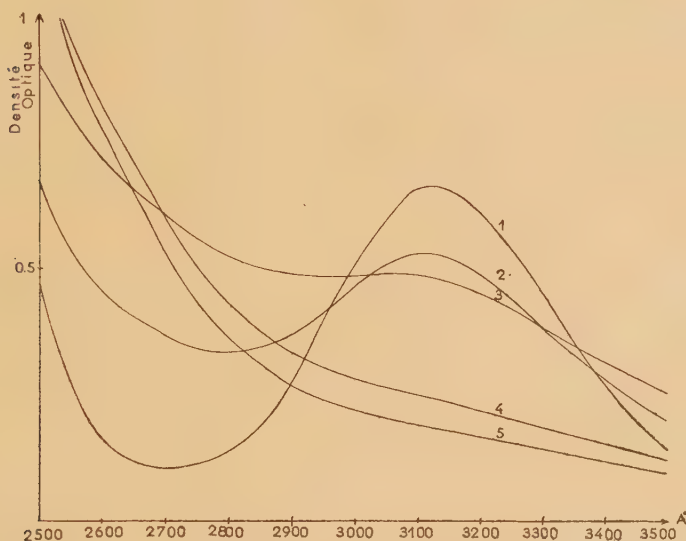


FIG. 16

Spectres d'absorption de mélanges or-polyvinylamine en milieu hydrolysé. La concentration d'or reste constante (0,00014 M), la concentration en gélatine varie (0 ; 0,001 % ; 0,002 % ; 0,003 % ; 0,004 % respectivement pour les solutions 1, 2, 3, 4 et 5).

Nous retrouvons également un point isobestique dans le premier stade mais dans ce cas il n'est pas parfait à cause probablement des variations de pH observées.

La limite entre les deux stades se situe lorsque le rapport P.V.A./Au est tel qu'il y a sensiblement 2 NH₂ pour 1 Au.

Nous retrouvons donc une similitude d'action entre la P.V.A. et la gélatine. C'est la preuve que dans le système or-gélatine le rôle des fonctions amines de la protéine est prépondérant.

En résumé, les expériences avec la polyvinylamine nous permettent de confirmer les résultats suivants :

à pH bas, l'action entre le chlorure d'or et la gélatine n'est qu'une réaction d'oxydo-réduction sans liaison ;

à pH plus élevé, cette réaction d'oxydo-réduction s'accompagne de la formation d'un complexe entre les NH_2 de la gélatine vraisemblablement oxydés en imines et l'or à l'état aureux.

Il n'est pas possible étant donnée la complexité de la molécule de gélatine de proposer une formule de ce complexe qui doit entrer dans l'ensemble des complexes azotés de l'or déjà nombreux. Signalons en outre que ces résultats n'infirment pas la possibilité d'intervention du groupement guanidique de l'arginine qui, comme les imines, présente un $=\text{NH}$.

Ces faits sont enfin compatibles avec l'observation faite par de nombreux auteurs [9, 30], à savoir que les meilleurs protecteurs du colloïde d'or sont des substances azotées.

L'existence de ce complexe doit intervenir dans l'explication du phénomène de stabilisation de l'hydrosol d'or par la gélatine.

Si nos expériences ont montré le rôle particulier que jouent les fonctions azotées dans les interactions entre gélatine et or, il ne faut toutefois pas exclure toute autre action, en particulier une oxydation des fonctions alcools, action qui s'accompagne nous l'avons vu, de dégradation. D'ailleurs nous verrons plus loin que les mesures de diffusion lumineuse que nous avons effectuées nous permettent de mettre en évidence une telle dégradation de la gélatine.

D'autre part, il ne faut pas non plus faire un parallèle entre la teneur en azote aminé ou guanidé d'un polyélectrolyte et son pouvoir protecteur vis-à-vis du colloïde d'or. Cette teneur n'est qu'un facteur. Il ne faut pas oublier en effet que la configuration géométrique du protecteur doit intervenir également. L'albumine par exemple qui est une protéine globulaire ne peut avoir le même effet que la gélatine, protéine linéaire, bien que les taux d'azote aminé ou guanidé puissent être comparables. Le problème de la stabilisation ne peut être schématisé.

LA PRÉPARATION DE L'OR COLLOÏDAL

Nous avons abordé l'étude du système or-gélatine dans l'intention d'expliquer, dans la mesure du possible, le phénomène de la stabilisation de l'or colloïdal par la gélatine. L'existence dans certaines conditions d'un complexe formé par la réaction de l'or sur les groupements azotés de la protéine peut faire comprendre l'union intime qui se crée entre colloïde protecteur et colloïde protégé, si l'on admet la présence dans la micelle d'or d'une partie active porteur de groupes ionogènes.

Mais nos mesures semblent montrer que la formation de ce complexe est précédée par une réaction de réduction dont elle ne serait que le corollaire. Or, la préparation d'un hydrosol d'or par voie chimique n'est autre qu'une réaction de réduction. La gélatine doit donc jouer un rôle non seulement dans la protection du sol, mais encore dans sa formation.

Les exemples mettant en évidence le pouvoir protecteur de la gélatine et son intérêt ne manquent pas. La gélatine a l'indice d'or le plus faible que l'on connaisse et est un produit d'usage courant. Par contre il est rare que l'on utilise son pouvoir de réduction dans la préparation des sols. Le formol, le phosphore, le glucose, l'eau oxygénée, l'acide citrique, l'acide ascorbique sont d'un emploi plus classique. Mis en présence de chlorure aurique en solution ils provoquent l'apparition quasi immédiate d'or réduit alors que la gélatine dans des conditions identiques demanderait plusieurs heures.

Mais un colloïde n'est pas une entité chimique. Selon le réducteur, le pH, les concentrations, la température où l'on opère, on obtient des colloïdes différents. Le choix d'une méthode de préparation est fonction de l'utilisation que l'on doit faire du produit à obtenir. Aussi dans certains cas la gélatine peut être un réducteur intéressant.

Le colloïde d'or radioactif préparé par le Commissariat à l'Energie Atomique [58] est un exemple à la fois de l'emploi de la gélatine comme réducteur et comme protecteur.

Ce colloïde est destiné à un usage médical. Il en résulte plusieurs impératifs : stabilité très grande, forte concentration, absence de produits nocifs, pH non inférieur à 5, monodispersion et dimensions élevées des particules.

Les conditions de stabilité à de fortes concentrations pour un sol ayant des particules aux dimensions élevées exigent la présence d'un colloïde protecteur. Il est naturel de choisir la gélatine. C'est ce qui a été fait. Les conditions de stabilisation sont bonnes puisque le pH doit être supérieur à 5.

La nécessité de ne pas avoir de produits nocifs dans le milieu élimine l'emploi de réducteurs tels que le phosphore, le formol ou l'eau oxygénée. Mais le choix restait encore large entre le glucose, l'acide citrique, l'acide ascorbique et bien d'autres réducteurs.

L'impératif le plus difficile à satisfaire était celui de monodispersion des particules. Il éliminait d'abord la dispersion électrique de BREDIG. Il demandait pour les méthodes chimiques l'étude des facteurs conditionnant formes et dimensions des particules.

Si la micelle a une partie active, il n'en reste pas moins qu'elle est essentiellement cristalline et dans sa formation comme dans toute cristallisation il faut au départ un germe. Déjà ZSIGMONDY [9], mais beaucoup plus nettement TURKÉVITCH [59] ont distingué la phase de formation des germes ou nucléation de la phase de croissance lors de la fabrication d'un sol.

Dans le cas général les deux phases existent simultanément dans le milieu où se forme le sol. L'apparition des germes est échelonnée dans le temps. Les premiers nés ont un temps de croissance plus long et deviennent plus gros que les derniers. Et finalement on aboutit à un sol polydispersé. Pour éviter un tel processus il faut séparer les deux phases. La nucléation doit être négligeable devant le temps de croissance. On peut alors considérer que tous les germes grossissent dans les mêmes conditions et effectivement on obtient alors un sol monodispersé.

La séparation des phases est possible parce que les mécanismes de nucléation et de croissance sont différents.

La nucléation se fait dans les milieux fortement réducteurs. L'apparition des germes cristallins est précédée par celle d'une particule amorphe. BÉRESTÉNÉVA [10] l'a mis en évidence lors de réduction par le phosphore. TURKÉVITCH de même avec le citrate de sodium a un « corps diffus » précurseur des particules métalliques. Il pense que

ce serait un complexe qui se formerait entre une forme oxydée du citrate et le chlorure d'or, complexe qui se polymériserait puis se décomposerait pour donner naissance aux germes.

La croissance, elle, peut se faire avec des réducteurs plus doux. Si l'on mélange dans une vaisselle très propre une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine avec une solution de chlorure d'or, il n'apparaît pas de colloïde même après plusieurs heures. Mais si dans le milieu on introduit des germes, la réduction se fait, les germes grossissent. TURKÉVITCH a étudié cette croissance et s'est aperçu que plus les particules sont grosses et plus elles augmentent rapidement. Il émet l'hypothèse que la réduction du chlorure d'or à la surface de la micelle métallique serait limitée par la possibilité qu'a cette micelle de dissiper en sa masse l'énergie libérée par la réduction. La dissipation de cette énergie dans le milieu ambiant serait difficile, toujours selon TURKÉVITCH, à cause du caractère lyophobic du colloïde d'or et ce seraient les vibrations du réseau cristallin qui absorberaient l'énergie. Quoi qu'il en soit lorsque les germes sont très petits la croissance est très lente. Et l'on comprend en passant à la limite que le processus de croissance ne puisse faire apparaître des germes.

Pour obtenir des colloïdes monodispersés on a donc intérêt à opérer en deux temps. Avec un réducteur fort on fabrique des germes. On calcule concentrations, température, pH, de telle sorte que la formation soit rapide, que les germes soient nombreux, que la croissance se fasse mal. On choisit ensuite un réducteur doux, apte seulement à la croissance et on lui ajoute des germes. Les deux phases sont ainsi nettement séparées et les résultats sont reproductibles.

Le Commissariat à l'Energie Atomique a suivi un tel protocole. Il a choisi le glucose comme réducteur de nucléation. En opérant en milieu alcalin on évite l'hydrolyse du glucose et on obtient des germes dont la distribution des dimensions est étroite. Le choix du réducteur de croissance s'est porté sur la gélatine. Elle assure très bien la croissance des germes et ses produits d'oxydation ne sont pas toxiques.

La gélatine joue donc bien deux rôles : le rôle de protecteur et le rôle de réducteur.

DEUXIÈME PARTIE

Modification subie par la gélatine
dans la préparation et la stabilisation
de l'or colloïdal

INTRODUCTION

Nous avons mis en évidence par des méthodes de physico-chimie classiques l'oxydation de la gélatine par l'or aurique et les possibilités de liaison qui en résultent dans certaines conditions.

Toute cette étude a été rendue délicate par l'instabilité des systèmes considérés. Cette instabilité est inhérente à la complexité chimique des constituants.

Nous avons dit par exemple que les groupements azotés de la gélatine étaient sensibles à l'oxydation. Mais il n'y a pas un type de groupements azotés, il y en a au moins quatre : les groupements α aminés, ϵ aminés, imidazols et guanidiques dont les pK s'échelonnent entre 6 et 11.

On comprend alors que bien que ces fonctions aient des caractères communs elles ne donnent pas des réactions identiques. D'où évolution avec le temps et difficulté de faire des mesures reproductibles.

Si la gélatine se prête mal à une schématisation du point de vue chimique il en est de même de l'or ionique. Quatre complexes trivalents peuvent exister simultanément auxquels s'ajoutent les complexes monovalents.

On comprend qu'il soit dans ces conditions bien difficile d'écrire l'équation d'une réaction.

Ne pouvant caractériser d'une façon complète les réactions d'oxydation et de liaison par les constantes physico-chimiques classiques nous avons essayé de suivre l'évolution des propriétés purement physiques de la gélatine sous l'action de l'or ionique pris globalement.

Les propriétés physiques les plus classiques d'une macromolécule sont son poids moléculaire et son rayon de giration. Les échan-

tillons naturels de gélatine étant polydispersés une autre caractéristique s'introduit, c'est la fonction de distribution des propriétés étudiées.

La méthode qui nous a paru le plus apte à ces déterminations est la diffusion lumineuse. C'est elle, en effet qui permet d'atteindre le plus simplement ces différents facteurs. Elle avait aussi pour nous un autre intérêt, sur lequel nous reviendrons plus loin, celui de permettre d'aborder à travers le problème des interactions entre polyélectrolytes celui du devenir de l'or colloïdal dans l'organisme.

Aussi, avant d'exposer nos mesures, nous allons donner un aperçu de la théorie de la diffusion lumineuse telle qu'elle a été développée pour l'étude des solutions et nous décrirons notre montage.

LA MÉTHODE DE DIFFUSION LUMINEUSE

THÉORIE

La théorie de la diffusion lumineuse (*) a été abordée par Lord RAYLEIGH [60] d'une façon directe. Il évalue d'abord l'intensité diffusée par une particule puis une simple sommation lui permet d'obtenir l'intensité diffusée par un ensemble.

Cette méthode a été appliquée au cas des gaz. Elle ne rencontre pas de difficultés car les molécules ont alors des mouvements totalement incohérents.

Dans le cas d'un liquide ce calcul direct devient très complexe car un tel milieu est plus homogène du point de vue optique qu'une phase gazeuse. Les effets des interférences multiples sont difficiles à évaluer du fait des interactions importantes existant entre les molécules. L'intensité diffusée est diminuée à cause de l'organisation des molécules du liquide et si le liquide cristallisait en un cristal parfait elle s'annulerait.

Au lieu de calculer cette diminution due aux interférences des ondes diffusées, il est plus simple en général de considérer le problème de la diffusion par un liquide comme dû à des fluctuations de sa structure à partir d'un ordre parfait.

VON SMOLUCHOWSKY [61] avait appliqué cette méthode aux gaz à leurs points critiques. Ensuite EINSTEIN [62], GANS [63] et d'autres auteurs ont montré son intérêt pour les milieux liquides ou d'une façon plus générale pour les milieux où des interactions sont fortes.

Le problème qui nous intéresse est celui des solutions. Dans ce cas la méthode directe de RAYLEIGH peut s'appliquer mais encore

(*) Références générales [70 à 73].

faut-il que la solution étudiée soit très diluée ; dans ces conditions en effet les molécules du soluté n'interagissent pas entre elles et les lois simples données pour les gaz sont alors applicables. La lumière diffusée par une solution est la somme de deux termes, l'un dû à la diffusion des molécules du soluté, l'autre dû à la diffusion du solvant. Il est possible en retranchant de la diffusion globale le terme de diffusion du solvant pur, d'obtenir la diffusion propre aux molécules du soluté.

Mais en fait, les concentrations utilisées sont souvent trop importantes pour que l'on puisse négliger toute interaction entre les molécules. L'évaluation de l'intensité diffusée se fait généralement en faisant appel aux méthodes de calcul basées sur les fluctuations de structure.

Nous envisagerons successivement le cas de la diffusion lumineuse de solutions renfermant de petites molécules (dimensions inférieures à $\lambda/20$) ensuite celui de la diffusion des grosses particules.

1°) Diffusion lumineuse des petites molécules

Considérons une solution de petites particules éclairées par un faisceau de lumière parallèle et monochromatique de longueur d'onde λ dans la solution.

D'une façon générale on caractérise la diffusion lumineuse par la constante de LORD RAYLEIGH, R_{90} qui est le rapport de la valeur numérique de l'intensité I_{90} diffusée par unité de volume normalement au faisceau incident à la valeur numérique de l'éclairement E produit par le faisceau primaire sur un plan normal à ce faisceau. On a donc :

$$R_{90} = I_{90}/E$$

Explicitons, comme le fait DOTY [64], ce terme selon les méthodes de calcul tenant compte des fluctuations de structure. Conformément aux lois de RAYLEIGH l'intensité diffusée est proportionnelle à I/λ^4 ; on doit donc retrouver ce terme dans l'expression développée de R .

Les fluctuations de structure comprennent les fluctuations de densité ρ du solvant et les fluctuations de concentration c du soluté.

Elles sont toutes d'origine thermique : aussi figurera dans l'expression de R_{90} , le terme k/T , k étant la constante de BOLZMAN et T la température absolue.

Ces fluctuations correspondent en fait à des modifications du moment électrique P du volume considéré. D'après MAXWELL ce moment électrique P dépend de l'indice n du milieu et est de la forme :

$$P = (n^2 - 1)/4 \pi$$

De plus dans la théorie des fluctuations, on doit considérer la fluctuation du carré moyen. Il s'en suit que dans la formule explicite de R_{90} doivent figurer :

- un terme représentant les fluctuations de densité du solvant proportionnel à $n^2 (\partial n / \partial \rho)^2$
- un terme représentant les fluctuations en concentration du soluté proportionnel à $n^2 (\partial n / \partial c)^2$

Le terme représentatif des fluctuations de densité $n^2 (\partial n / \partial \rho)^2$ doit être affecté du coefficient β , c'est-à-dire du facteur de compressibilité isotherme dont l'inverse caractérise la résistance rencontrée par l'énergie thermique pour produire ces fluctuations de densité.

D'autre part, les fluctuations en concentration sont amorties par le travail requis pour amener les molécules d'une concentration donnée à une autre. On doit donc retrouver à côté du terme : $n^2 (\partial n / \partial c)^2$ un facteur mesurant ce travail et représentant la variation de l'énergie libre de dilution $\Delta \bar{F}$ avec la concentration. Ce facteur est de la forme $\partial \Delta \bar{F} / \partial c$.

Enfin doit figurer le volume moléculaire du solvant V , dans l'expression du rapport de RAYLEIGH que l'on peut écrire en définitive sous la forme :

$$R_{90} = \frac{2 \pi^2 n^2 k T}{\lambda^4} \left[\beta \rho^2 (\partial n / \partial \rho)^2 + \frac{V c}{\partial \Delta \bar{F} / \partial c} (\partial n / \partial c)^2 \right]$$

formule dont nous venons de définir tous les termes et dans laquelle on retrouve bien le facteur dû au solvant et celui dû au corps dissous.

Remarquons que dans le cas d'un solvant pur, le deuxième terme du crochet devient nul et la relation obtenue permet de vérifier la constante de BOLTZMAN et par suite la détermination du nombre d'Avogadro.

Par contre lorsque l'on a affaire à une solution on retranche dans la pratique la diffusion du solvant pur et l'équation donnant l'intensité diffusée propre au soluté se réduit à :

$$R_{90} = \frac{2 \pi^2 n^2 k T}{\lambda^4} \cdot \frac{V c}{\partial \Delta \bar{F} / \partial c} (\partial n / \partial c)^2$$

La mesure de R_{90} est intéressante car elle permet d'obtenir certaines caractéristiques des molécules du soluté.

Le terme $\partial \Delta \bar{F} / \partial c$, variation de l'énergie libre de dilution, mesure le travail requis pour réaliser les fluctuations de concentration.

C'est une grandeur reliée aux paramètres que nous cherchons.

L'énergie libre de dilution est égale au produit, changé de signe, de la pression osmotique Π par le volume moléculaire V .

$$-\Delta \bar{F} = \Pi V$$

Or, d'après VAN T'HOFF :

$$\Pi = R \cdot T \cdot c/M$$

R étant la constante des gaz et M la masse moléculaire du soluté.

Mais les solutions ne sont pas idéales, les dilutions ne sont pas infinies et on adopte généralement l'équation :

$$\Pi = R \cdot T \cdot c/M + B c^2$$

B étant une constante fonction des interactions se produisant dans le milieu.

Il vient donc finalement après substitutions et simplifications :

$$\frac{2 \pi^2 n^2 (\partial n / \partial c)^2}{\lambda^4 N} \times \frac{c}{R_{90}} = \frac{1}{M} + 2 \frac{B}{RT} c + \dots \quad (I)$$

où la constante k de BOLTZMAN a été remplacée par le rapport R/N , N étant le nombre d'AVOGADRO.

Dans ce qui précède, nous avons supposé les particules isotropes et de dimensions inférieures à $\lambda/20$.

Si les conditions d'isotropie ne sont pas remplies, on doit multiplier le premier membre de l'équation (I) par le rapport de CABANNES :

$$\frac{6(1 + \rho)}{6 - 7\rho}$$

ρ = facteur de dépolarisation de la solution.

On voit donc que pour obtenir le poids moléculaire du soluté, il n'y a qu'à mesurer la quantité R_{90} pour différentes concentrations de la solution. On obtient la droite d'équation :

$$\frac{Kc}{R_{90}} = \frac{1}{M} + 2 \frac{B}{RT} c$$

en posant
$$K = \frac{2 \pi^2 n^2 (\partial n / \partial c)^2}{\lambda^4 N}$$

et l'extrapolation à $c = 0$ donne le poids moléculaire.

2^o) Diffusion lumineuse des grandes molécules :

Dans le cas précédent, les molécules sont suffisamment petites pour que chacune soit considérée comme source individuelle de rayonnement.

L'intensité diffusée est alors symétrique par rapport à la direction faisant un angle de 90° avec la direction du faisceau incident.

Si θ est un angle quelconque d'observation et si on définit d'une façon analogue au rapport de RAYLEIGH la quantité R_θ on a la relation :

$$R_\theta = R_{90} (1 + \cos^2 \theta)$$

Si la lumière incidente est polarisée verticalement par rapport au plan d'observation quel que soit θ , on a :

$$R_\theta = R_{90}$$

Il suffit donc de déterminer R_{90} pour connaître tout le diagramme de diffusion.

Mais pour les grandes molécules la connaissance de R_{90} ne suffit plus pour caractériser la diffusion.

La lumière diffusée par les différentes parties de la même molécule donne lieu à des interférences destructives notables, causant ainsi une diminution de l'intensité mesurée qui se fait toujours le plus sentir vers l'arrière et qui est d'autant plus importante que les dimensions de la molécule augmentent. Le diagramme obtenu est donc dissymétrique, l'intensité diffusée n'est plus une fonction simple de l'angle θ et on ne peut plus appliquer la méthode précédente.

D'une façon générale, on peut écrire, en supposant la lumière incidente polarisée verticalement pour ne pas tenir compte du facteur $(1 + \cos^2 \theta)$:

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \left(\frac{1}{M} + 2 \frac{B}{RT} c \right) \frac{1}{P(\theta)} \quad (II)$$

où $P(\theta)$ est une fonction rendant compte des interférences nouvelles introduites par les grandes dimensions des molécules.

Mais, il faut remarquer que les différences de marche entre les ondes diffusées dans la direction du faisceau incident sont nulles.

$P(\theta)$ est donc égal à 1 pour $\theta = 0$.

Si donc, on remplace R_{90} par R_0 la masse moléculaire au soluté peut être obtenue comme dans le cas des petites molécules.

R_0 n'est pas une grandeur directement mesurable. Il est obtenu par extrapolation des mesures faites à différents angles θ jusqu'à $\theta = 0$.

On aura donc le poids moléculaire d'une macromolécule après deux extrapolations :

- Une extrapolation à angle $\theta = 0$
- Une extrapolation à concentration $c = 0$.

LE DIAGRAMME DE ZIMM

ZIMM [65] a proposé une méthode graphique permettant d'effectuer les deux extrapolations sur un même diagramme.

Il porte Kc/R_θ en fonction de la quantité $(\sin^2 \theta/2 + Ac)$,
A étant une constante arbitraire.

Les points expérimentaux définissent deux réseaux de courbes :

- Les courbes d'équiconcentration, représentant l'inverse de la fonction $P(\theta)$ à une constante près pour chaque concentration étudiée.
- Les courbes tracées pour un même angle, fonctions uniquement de la concentration.

Ces réseaux conduisent à deux courbes extrapolées, l'une à angle nul, l'autre à concentration nulle, qui doivent se couper sur l'axe des ordonnées en un point définissant la valeur $1/M$.

LA FONCTION $P(\theta)$

Aucune étude particulière de la fonction $P(\theta)$ n'est nécessaire pour le calcul du poids moléculaire du soluté.

Mais cette fonction trouve son origine dans les différences de phase existant entre les oscillateurs élémentaires composant la macromolécule. On conçoit donc qu'elle dépende de la forme et des dimensions de cette molécule.

D'après l'équation (II) il est possible de déterminer expérimentalement $P(\theta)$.

Or, on démontre théoriquement que cette fonction est dans le cas le plus général de la forme :

$$P(\theta) = \sum_i \sum_j \frac{\sin k s (r_{ij})}{k s (r_{ij})}$$

où (r_{ij}) = distance entre 2 éléments diffusants i et j :

$$\begin{aligned} k &= 2\pi \\ s &= \sin \theta/2 \end{aligned}$$

Cette expression peut-être développée et devient de la forme :

$$P(\theta) = 1 - \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} r^2 \sin^2 \frac{\theta}{2} + \dots$$

r^2 étant le carré moyen du rayon de giration.

La pente de la courbe représentative de la fonction $P(\theta)$ à $\theta = 0$ où les termes donnés sont prépondérants, permet donc d'atteindre ce rayon de giration.

D'autre part, l'allure générale de la courbe fournit des renseignements sur la forme des molécules. Théoriquement on a établi l'équation exacte de $P(\theta)$ pour des formes simples : sphères, bâtonnets et pelotes de GAUSS. La comparaison entre la courbe expérimentale et ces courbes théoriques montre si l'on est dans un de ces cas simples ou si l'on s'en rapproche.

Enfin, la fonction $P(\theta)$ permet de caractériser tout au moins approximativement la polydispersité de l'échantillon étudié.

On ne connaît pas généralement la fonction de distribution qui résoudrait entièrement le problème de la polydispersité. Seul un fractionnement permet son obtention d'une façon précise. On se contente dans la plupart des cas d'une estimation de différents moments de cette fonction. Les plus classiques sont les poids moléculaires moyens en nombre, M_n , en poids, M_w et « z », M_z (voir, par exemple, CHARLESBY [66]).

Nous avons dit que plus une molécule est grande, plus son diagramme de diffusion est dissymétrique. L'intensité diffusée aux grands angles est en effet d'autant plus diminuée que les dimensions de l'élément diffusant sont importantes. D'autre part, il est bien évident que la quantité R_0 augmente avec ces mêmes dimensions. Il s'ensuit que pour un échantillon polydispersé la diffusion aux petits angles est fonction essentiellement des grandes molécules et la diffusion aux grands angles, fonction des petites.

Si on applique méthode et calculs définis en milieu monodispersé basés sur l'extrapolation de $P(\theta)$ aux petits angles on ne peut obtenir des valeurs moyennes en nombre. Effectivement DOTY [64] a montré que le poids moléculaire obtenu est M_w et ZIMM [67] le rayon de giration r_z .

BENOIT [68] dans le cas des chaînes de GAUSS a permis de pousser plus loin l'utilisation de la courbe représentative de $P(\theta)$ lorsqu'il y a polydispersité. Il a démontré que $P(\theta)$ tend, aux grands angles et si les particules sont assez grandes, vers une asymptote $P'(\theta)$.

L'extrapolation sur le diagramme de ZIMM, de la courbe représentative de $I/P(\theta)$ à concentration nulle, pour les grands angles, conduit alors au tracé d'une droite définissant sur l'axe des ordonnées une quantité Kc/R'_0 ; R'_0 ne correspond pas à une grandeur réelle, c'est une grandeur théorique dépendante principalement des petites molécules de solution. BENOIT démontre que :

$$(Kc/R'_0)_{c=0} = 1/2 M_n$$

D'autre part l'équation de $P'(\theta)$ étant de la forme :

$$P'(\theta) = 1 - \frac{16 \pi^2}{\lambda^2} r_n^2 \sin^2 \theta/2.$$

sa pente nous permet de calculer r_n (Fig. 17).

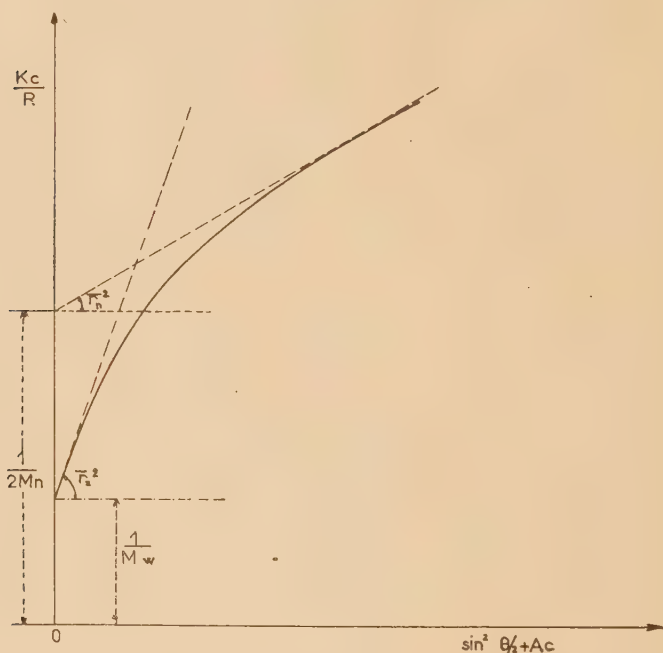


FIG. 17

Pour que les équations de BENOTT soient applicables il faut [69] lorsque $\lambda' = 3\,250 \text{ \AA}$ que l_z , racine carrée de l'écart quadratique moyen entre les extrémités de la chaîne gaussienne de poids moléculaire M_z , soit supérieur à $3\,000 \text{ \AA}$; l_z est d'ailleurs reliée à r_z par la relation $r_z^2 = l_z^2/6$.

Pour les valeurs de l_z comprises entre 800 et $3\,000 \text{ \AA}$ l'extrapolation asymptotique peut malgré tout encore se faire mais elle est hasardeuse. Pour les valeurs inférieures à $800 \text{ \AA}$ elle est impossible.

Cas des polyélectrolytes

Si le soluté est un polyélectrolyte le domaine d'influence d'une particule est nettement supérieur à ce qu'il serait s'il n'y avait pas de charge. On conçoit que les effets d'organisation se fassent sentir à des concentrations très faibles.

On noie alors l'effet des charges par des sels neutres dont le pouvoir diffusant doit être négligeable sinon il faudrait en tenir compte et les équations deviennent alors très complexes.

En opérant donc avec des sels diffusant relativement peu et à des grandes dilutions on peut obtenir, après extrapolation à $c = 0$ et $\theta = 0$ le poids moléculaire M_w comme on le fait pour les molécules non chargées. On atteint aussi forme et dimensions mais les interprétations sont souvent difficiles du fait des grandes variations de la distribution angulaire de la lumière diffusée avec les concentrations.

APPAREILLAGE DE DIFFUSION LUMINEUSE

Le principe des mesures de diffusion lumineuse est très simple : il suffit d'éclairer la solution à étudier avec un faisceau de lumière parallèle monochromatique et de mesurer l'intensité diffusée dans différentes directions.

En pratique, on rencontre trois sortes de difficultés :

— l'existence de lumière parasite due à de multiples réflexions sur les parois du récipient ;

— la nécessité d'employer une source de lumière non ponctuelle pour avoir un faisceau incident intense, l'intensité diffusée étant presque toujours faible ; il s'en suit la difficulté d'obtention de rayons parallèles nécessaires à la bonne détermination du volume diffusant ;

— l'impossibilité pratique de comparer directement intensité incidente et intensité diffusée qui sont trop différentes ; les mesures doivent être relatives et nécessitent le choix d'un étalon.

De nombreux auteurs ont décrit des appareillages dont la diversité montre qu'il n'existe pas une façon simple de résoudre tous les problèmes [74 à 82].

Les grandes lignes de notre montage sont les suivantes (figure 18) :

Comme source lumineuse nous avons choisi une lampe à vapeur de mercure Philips S.P. 500 refroidie par une circulation d'eau.

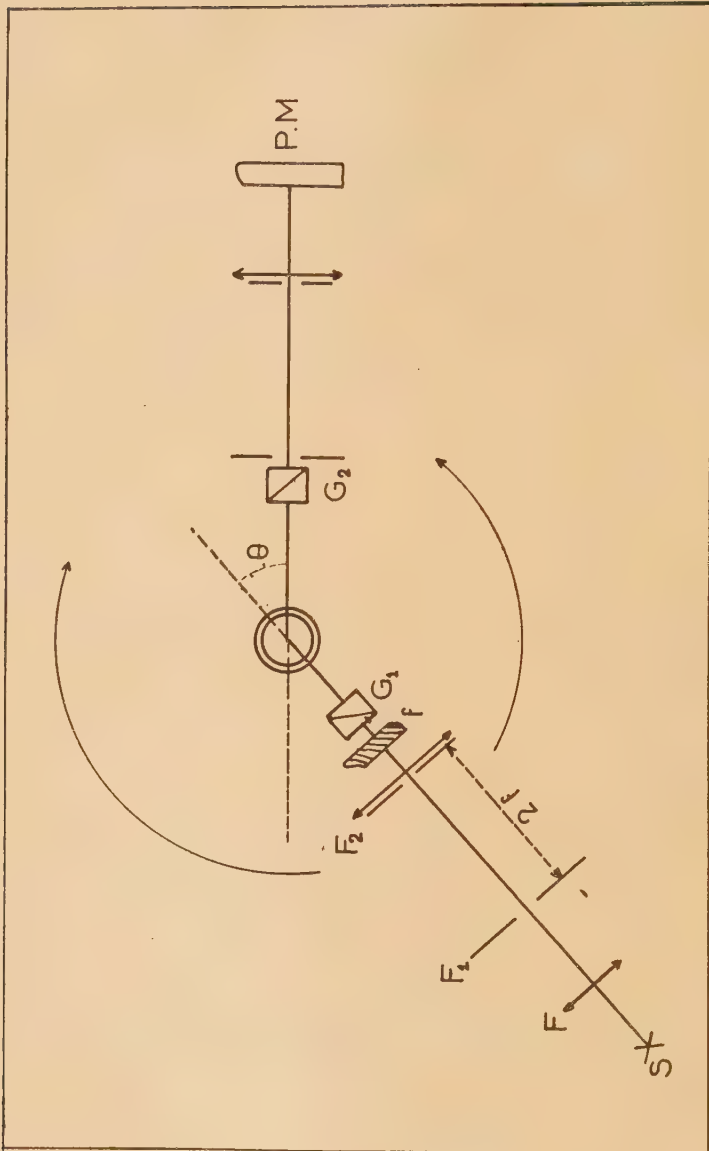


FIG. 18

Le faisceau incident est défini par deux fentes F_1 et F_2 d'égale grandeur séparées par une distance $2 f$.

L'image de la source est projetée grâce à une lentille dans le plan de F_1 . Dans le plan de F_2 , une deuxième lentille de distance focale f donne de F_1 une image en vraie grandeur, au centre de la cellule de mesure.

La cellule en verre est sphérique et d'un diamètre de 5 cm. Elle est placée au centre d'une cuve cylindrique en verre également de 20 cm de diamètre remplie de benzène, pouvant être thermostatée. Un couloir métallique peint en noir masque le faisceau incident et le faisceau transmis lors de la traversée du benzène.

L'ensemble faisceau incident, cellule et thermostat est monté sur un banc d'optique solidaire d'une pièce mobile pouvant tourner autour de l'axe de la cellule.

Le faisceau diffusé est fixe. Il est défini également par deux fentes d'égale grandeur puis est focalisé par une lentille sur la surface sensible d'un tube photomultiplicateur RCA I P 21.

La lumière est rendue monochromatique par interposition sur le faisceau incident de deux filtres, l'un constitué par de l'eau céleste et l'autre par une solution alcoolique de nitrobenzène. On isole ainsi la raie indigo 4 358 Å.

Il est prévu dans ce montage l'interposition d'un glazebrook (G_1) aussi bien sur le faisceau incident que sur le faisceau diffusé (G_2) pour pouvoir travailler en lumière polarisée ou mesurer si nécessaire les facteurs de dépolarisation.

La lampe à vapeur de mercure alimentée par le secteur modulé à 50 périodes est elle-même modulée à 100. Le courant fourni par le photomultiplicateur est donc aussi modulé. L'emploi d'un amplificateur sélectif accordé à la fréquence 100 nous a permis d'augmenter la qualité des mesures en éliminant les bruits de fond. Les mesures étaient ainsi possibles même pour de très faibles valeurs d'intensités diffusées.

Dans ce montage la présence de la cuve thermostatée remplie de benzène dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre diminue considérablement les réflexions parasites.

La série de fentes utilisées permet de conserver un faisceau dont aucun rayon extrême ne s'écarte sensiblement de l'axe idéal.

Les mesures peuvent se faire pour les angles θ compris entre 30° et 135° de part et d'autre de la position 0° . Nous avons vérifié la symétrie du montage en utilisant une solution de fluorescéine. En lumière polarisée, compte tenu de la correction de volume, l'intensité mesurée est constante quel que soit θ dans le domaine envisagé et ceci de part et d'autre du faisceau incident.

Enfin comme étalon nous avons choisi le benzène dont le rapport de RAYLEIGH a donné lieu à de nombreuses déterminations. Nous avons adopté la valeur $48,5 \cdot 10^{-6}$ donnée par CARR et ZIMM [78] pour la longueur d'onde utilisée.

Un facteur correctif $n^2_{\text{eau}}/n^2_{\text{benzène}}$ doit être introduit pour tenir compte de la variation du volume diffusant lorsque les solutions sont aqueuses.

Lorsque nos solutions présentaient une certaine absorption un deuxième facteur correctif issu simplement de la loi de LAMBERT était employé [83].

APPLICATION DE LA MÉTHODE DE DIFFUSION LUMINEUSE A L'ÉTUDE DE LA GÉLATINE ET DE SON COMPORTEMENT EN PRÉSENCE DE L'OR A L'ÉTAT IONIQUE

Dans la première partie, nos mesures nous ont permis de conclure à une action purement oxydative de l'or non hydrolysé sur la gélatine alors qu'une liaison métal-protéine suivait l'oxydation lorsque le complexe aurique mis initialement en réaction a subi au préalable une hydrolyse.

GALLOP et ses collaborateurs [49] ont montré par des mesures de sédimentation la dégradation de la gélatine lors de l'oxydation par l'eau oxygénée à chaud.

De même GUSTAVSON [50] signale que le périodate dégrade le collagène.

Les ruptures de chaînes se feraient d'après ces auteurs surtout au niveau des amino-acides alcools.

L'or aurique étant un oxydant fort, on peut s'attendre à retrouver un effet analogue.

Il était donc intéressant de voir si l'oxydation par l'or s'accompagnait effectivement d'une dégradation que la seule action sur les groupements basiques ne laisse pas prévoir. L'étude en milieu non hydrolysé peut nous renseigner sur ce point.

D'autre part les déterminations en milieu hydrolysé doivent permettre de mettre en évidence et de caractériser par ses propriétés physiques, poids moléculaire et rayon de giration, le complexe métal-protéine formé.

La diffusion lumineuse de l'or ionique aux concentrations où l'on opère est négligeable devant celle de la macromolécule. La comparaison directe des diagrammes tracés en présence et en l'absence d'or suffira pour atteindre le but fixé.

Conditions expérimentales

La gélatine utilisée était de la gélatine électrodialysée TOUZART et MATIGNON de $pH = 4,8$. Elle était dégradée en solution de 6 % à l'autoclave à 120° pendant 20 mn de façon à avoir un produit comparable à celui utilisé par le C.E.A. pour la préparation de l'or colloïdal radioactif.

Il nous faut toutefois noter que l'autoclave étant chauffé au gaz les dégradations ne conduisaient pas toujours à des produits de poids moléculaires identiques ce qui avait peu d'importance nos mesures étant toujours comparatives.

Les solutions étaient débarrassées des poussières par filtration à travers des membranes poreuses Gottingen « grob », le diamètre des pores étant compris entre 0,5 et 1 μ .

Toutes les mesures étaient faites à 37° ce qui permet de ne pas tenir compte de l'histoire thermique de la gélatine [84].

On opérait toujours en présence de force ionique (ClNa 0,15 M) pour supprimer les effets de charges.

Les mesures d'incréments d'indice étaient faites au réfractomètre de PULLFRICH.

Résultats

a) $A pH + p Cl + p^2 = 3$

— En l'absence d'or.

Le diagramme de ZIMM a été tracé d'après les mesures faites sur des solutions dont les concentrations étaient :

Gélatine	0,1 à 0,5 %
ClNa	0,15 M
ClH	0,02 M

Le diagramme a une allure curviligne et l'extrapolation à $c = 0$ et $0 = 0$ conduit aux valeurs :

$$\begin{aligned} M_w &= 464\,000 \\ r_z &= 940 \text{ \AA} \end{aligned}$$

— En présence d'or.

Nous avons préparé, avec le même lot de gélatine, les solutions étant équilibrées à 40° , un mélange dont les concentrations étaient :

Gélatine	0,5
Au	0,0013 M
ClNa	0,15 M
ClH	0,02 M

Ce mélange était maintenu 2 heures à 40°. On diluait ensuite avec du solvant 0,2 M en ClNa et 0,2 M en ClH (dilutions au 1/5, 2/5, 3/5, 4/5).

Le diagramme obtenu était alors régulier et l'extrapolation conduisait à :

$$\begin{aligned} M_w &= 270\,000 \\ r_z &= 500 \text{ Å} \end{aligned}$$

b) $A pH + pCl + pf^2 = 6,5$

Nous avons opéré de façon analogue mais sans acide chlorhydrique et sur un autre lot de gélatine.

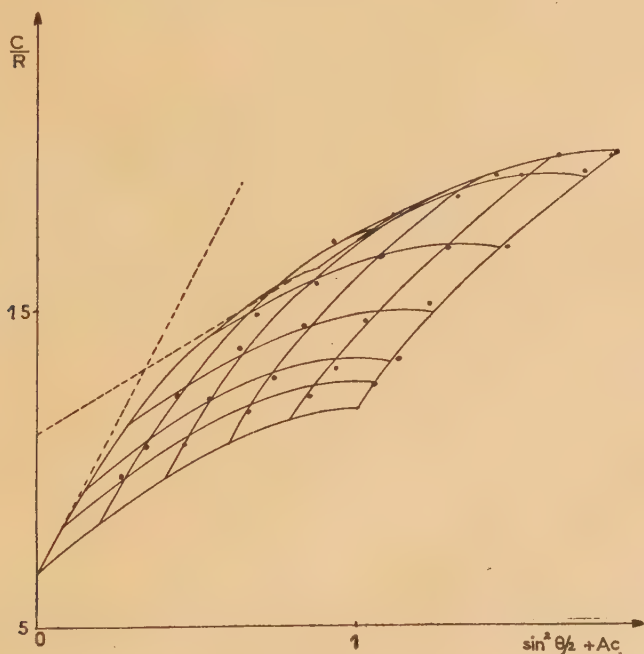


FIG. 19

— En l'absence d'or. (Fig. 19).

Le diagramme a la même allure curviligne qu'en milieu non hydrolysé et on obtient :

$$\begin{aligned} M_w &= 218\,000 \\ r_z &= 780 \text{ Å} \end{aligned}$$

— En présence d'or. (Fig. 20).

Le diagramme se régularise et les extrapolations conduisent à :

$$M_w = 218\,000$$

$$r_z = 320 \text{ \AA}$$

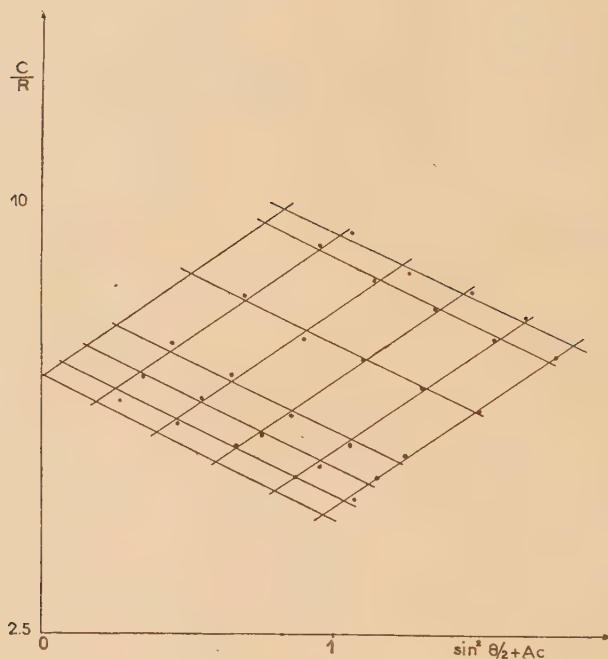


FIG. 20

On a ces résultats sans hypothèse. Dans le cas le plus général, le diagramme de ZIMM conduit à M_w et à r_z lorsque le milieu est polydispersé comme c'est le cas pour les échantillons de gélatine. Si l'on veut obtenir des renseignements complémentaires on est obligé de supposer à priori une certaine configuration des molécules étudiées car les facteurs de forme et de polydispersité se répercutent tous deux dans l'allure de la fonction $P(\theta)$.

BOEDTKER et DOTY [84] admettent que les molécules de gélatine se comportent comme des « random coils » c'est-à-dire des pelotes formées de chaînes repliées au hasard. Ils ont montré aussi que même

lorsqu'on s'éloigne du pH, en opérant en présence de ClNa 0,15 M, le rayon de giration varie très peu ; les pelotes se conservent donc.

Nous allons nous aussi assimiler nos échantillons à des échantillons de « random coils ». C'est une assimilation assez arbitraire car les rayons de giration que nous avons trouvés étant relativement plus élevés que ceux donnés par BOETDKER et DOTY on pourrait penser à une certaine rigidité de la molécule linéaire formant la pelote.

Aussi nous servirons-nous des équations de BENOIT applicables aux chaînes gaussiennes uniquement pour suivre l'évolution de la polydispersité lorsque de l'or ionique est en présence de la gélatine et en n'accordant à nos calculs qu'une valeur relative.

Pour les « random coils », le rayon de giration est relié à la racine carrée de l'écart quadratique moyen entre les extrémités d'une chaîne par la relation :

$$l^2 = r^2/6$$

Dans nos différents diagrammes $\sqrt{l_z^2}$ se situe entre 800 et 3000 Å, zone où l'extrapolation asymptotique, d'après BENOIT, HOLTZER et DOTY [69] bien qu'hasardeuse est possible.

Nous l'avons donc tracé et avons déterminé ainsi M_n , r_n , puis M_z en supposant, ce qui se fait généralement, qu'il y a proportionnalité entre la masse et le carré du rayon de giration.

On obtient finalement :

a) $A \text{ pH} + p\text{Cl} + pI^2 = 3$

pour la gélatine seule

$$M_n = 150\,000$$

$$M_w = 464\,000$$

$$M_z = 1\,365\,000$$

$$\sqrt{l_n^2} = 780 \text{ Å}$$

$$\sqrt{l_z^2} = 2\,350 \text{ Å}$$

pour le mélange or-gélatine

$$M_n = 135\,000$$

$$M_w = 270\,000$$

$$M_z = 405\,000$$

$$\sqrt{l_n^2} = 710 \text{ Å}$$

$$\sqrt{l_z^2} = 1\,225 \text{ Å}$$

b) $A \text{ pH} + p\text{Cl} + pI = 6,5$

pour la gélatine seule

$$M_n = 67\,000$$

$$M_w = 218\,000$$

$$M_z = 1\,000\,000$$

$$\sqrt{l_n^2} = 470 \text{ Å}$$

$$\sqrt{l_z^2} = 1\,830 \text{ Å}$$

pour le mélange or-gélatine

$$M_n = 109\,000$$

$$M_w = 218\,000$$

$$M_z = 327\,000$$

$$\sqrt{l_n^2} = 460 \text{ Å}$$

$$\sqrt{l_z^2} = 800 \text{ Å}$$

Calcul des fonctions de distribution

Les trois masses moyennes déterminées d'après le diagramme de ZIMM caractérisent la polydispersité des échantillons examinés mais elles ne peuvent fixer exactement une fonction de distribution.

Il nous a paru intéressant de voir si les valeurs de ces masses étaient compatibles avec les types de fonctions que l'on trouve habituellement dans la littérature.

Le cas des diagrammes rectilignes donnés par les mélanges gélatine-or est le plus simple car M_n , M_w et M_z sont dans le rapport 1/2/3. Le distribution peut être calculée sans difficulté par la formule de SCHÜTZ [85] reprise ensuite par ZIMM [67].

Cette distribution en poids s'écrit :

$$f(M) dM = y^{z+1} \cdot M^z \cdot e^{-yz} / z ! dM$$

y et z étant définis par les équations :

$$y = z/M_n = (z+1)/M_w = (z+2)/M_z \quad (I)$$

Lorsque M_n , M_w et M_z sont dans les rapports 1/2/3 on voit que z vaut 1 et $y = 1/M_n$. Cette distribution bien qu'arbitraire vérifie alors les trois paramètres et doit donc représenter la distribution réelle avec une très bonne approximation.

Considérons maintenant les diagrammes de diffusion donnés par la gélatine seule. Ils sont curvilignes et M_n , M_w et M_z ne sont pas dans un rapport simple.

Si nous introduisons dans les équations (I) les valeurs trouvées pour M_n et M_w lors du tracé du premier diagramme (150 000 et 464 000) nous trouvons $z = 0,48$ ce qui conduit toujours d'après les mêmes équations à $M_z = 775 000$ alors que l'on a trouvé $M_z = 1 365 000$. Les formules de SCHULTZ ne peuvent représenter valablement la fonction de distribution et de cet échantillon.

Il en est de même pour la gélatine dont on a tracé le diagramme à $pH + pCl + pf^2 = 6,5$.

Nous nous sommes alors adressés à un autre type de fonctions, les fonctions de distribution de LANGSING-KRAEMER [86]. WILLIAMS [87] les a d'ailleurs utilisées pour représenter la polydispersité de gélatines dégradées.

Ces fonctions sont aussi définies par deux paramètres.

On a les équations :

$$\begin{aligned} M_n &= M_0 e^{0,25 \beta^2} \\ M_w &= M_0 e^{0,75 \beta^2} \\ M_z &= M_0 e^{1,25 \beta^2} \end{aligned} \quad (II)$$

où M_0 est le poids moléculaire modal et β un coefficient de non-uniformité.

La distribution en poids s'écrit :

$$f(M) dM = \frac{I}{\beta M_n \sqrt{\pi}} \cdot e^{- (I/\beta \cdot \text{Log } M/M_0)^2} dM$$

En opérant comme précédemment pour les fonctions de SCHULTZ, à partir de M_n et M_w et des équations (II) nous pouvons calculer M_z et comparer la valeur obtenue avec celle fournie par les rayons de girations mesurés sur le diagramme de ZIMM.

La gélatine étudiée à $pH + pCl + pf^2 = 3$ conduit ainsi aux valeurs suivantes :

$$\begin{aligned} M_0 &= 85\,000 \\ \beta &= 1,5 \end{aligned}$$

$$\text{d'où il vient : } M_z = 1\,450\,000$$

alors que nous avons trouvé $M_z = 1\,365\,000$.

La distribution de LANGSING-KRAEMER peut donc représenter valablement la polydispersité de cette gélatine.

Pour la gélatine étudiée à $pH + pCl + pf = 6,5$ on obtient :

$$\begin{aligned} M_0 &= 37\,000 \\ \beta &= 1,55 \end{aligned}$$

$$\text{d'où : } M_z = 700\,000$$

Nous avons trouvé précédemment $M_z = 1\,000\,000$. L'écart est ici important mais il faut penser que les erreurs sur M_z sont très grandes. En effet :

$$M_z = M_n r_z^2 / r_n^2$$

r_z^2 n'est obtenu qu'à 5 % près, M_n et r_n^2 ne sont connus au mieux qu'à 10 % près car l'extrapolation asymptotique est difficile.

Nous représenterons donc aussi cet échantillon par la distribution de LANGSING-KRAEMER.

On trouvera sur les figures (21 et 22) les fonctions de distributions calculées pour les gélatines et les mélanges or-gélatine en employant, suivant les cas, comme nous l'avons indiqué, les distributions de SCHULTZ ou de LANGSING-KRAEMER.

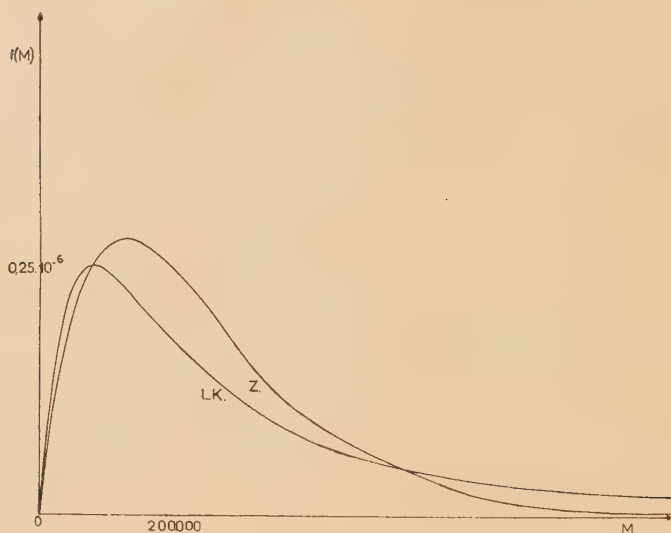


FIG. 21

Fonctions de distribution des poids moléculaires de la gélatine en milieu non hydrolysé :

L.K. = en l'absence d'or ionique.

Z. = en présence d'or ionique.

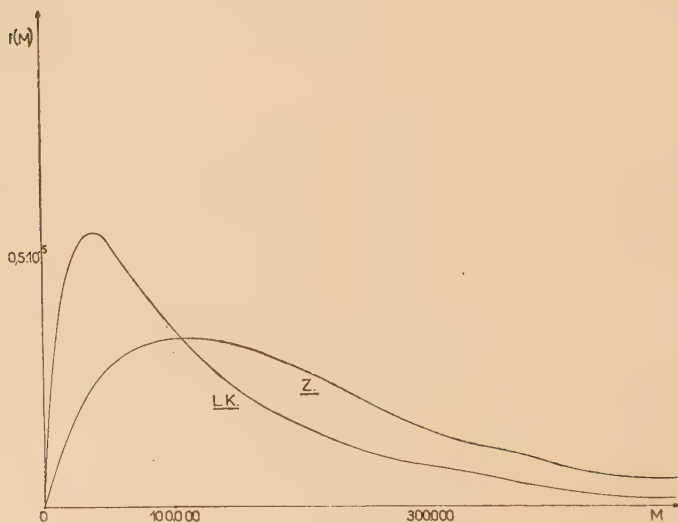


FIG. 22

Fonctions de distribution des poids moléculaires de la gélatine en milieu hydrolysé :

L.K. = en l'absence d'or ionique

Z. = en présence d'or ionique.

Discussion

a) *En milieu non hydrolysé* ($\text{pH} + \text{pCl} + \text{pf}^2 = 3$)

Nous constatons d'abord une diminution très nette de M_w et M_z ce qui est le signe de la disparition des grosses particules après action de l'or. La fonction de distribution illustre ce fait.

On voit par contre que M_n varie peu.

GALLOP et ses collaborateurs [45] après une oxydation très poussée par l'eau oxygénée à chaud ont mis en évidence une dégradation des molécules de gélatine.

Dans notre cas, l'or est un oxydant plus doux, la dégradation est plus faible et elle est sensible principalement sur les grosses molécules qui ont une probabilité de rupture bien plus importante que les petites molécules.

Les distributions données par WILLIAMS [87] pour les gélatines KNOX P-20 ou P-180 dégradées thermiquement et les gélatines de type OPG, oxypolygélatine dégradées chimiquement par des oxydants confirment la disparition des grandes molécules après oxydation et non après traitement par la chaleur.

Lorsque l'or n'est pas hydrolysé, nous retrouvons donc bien l'effet d'oxydation que nous avons mis en évidence dans la première partie de ce travail.

b) *En milieu hydrolysé* ($\text{pH} + \text{pCl} + \text{pf}^2 = 6,5$)

Ici, M_z diminue mais M_w ne change pas et M_n augmente. On voit sur les courbes de distribution que la présence d'or hydrolysé se traduit d'une façon bien différente que la présence d'or non hydrolysé.

M_z n'est fonction que des quelques très grosses particules de l'échantillon qui disparaissent par oxydation. D'où la diminution observée.

M_n par contre est fonction essentiellement des petites molécules : son augmentation est le signe d'une agglomération. Il doit donc se former un complexe or-gélatine responsable de cette agglomération.

Nous retrouvons donc les deux phénomènes d'oxydation et de complexion entre or ionique et gélatine. Sur les très grandes molécules l'effet de l'oxydation simple est prépondérant mais pour les autres molécules l'agglomération provoquée par l'or qui doit créer des ponts intermoléculaires compense plus que largement la dégradation oxydative.

Notons enfin que l'augmentation de M_n provoquée par l'or hydrolysé ne s'accompagne pas d'une augmentation de l_n . S'il y a des liaisons intermoléculaires il doit y en avoir aussi d'intramoléculaires qui entraînent cette contraction relative des particules.

Disons enfin que si l'assimilation de nos échantillons à des « random coils » est arbitraire au moins en partie, l'évolution générale, qu'elle nous a permis de décrire doit rester cependant valable même si nous n'avions pas des pelotes parfaitement gaussiennes.

TROISIÈME PARTIE

Rôle de la gélatine
dans l'utilisation de l'or colloïdal
en thérapeutique

INTRODUCTION

Nous avons considéré jusqu'à présent l'or colloïdal dans son ensemble, mais nous l'avons considéré seul.

Or, les hydrosols d'or sont fabriqués pour un emploi précis qui les met généralement en contact avec des éléments étrangers à leur milieu initial. Le problème de la réactivité du colloïde se pose alors.

Ainsi, l'or colloïdal radioactif qui est à l'origine de cette étude est préparé par le C.E.A. à des fins médicales.

Il n'est pas utilisé pour ses propriétés biochimiques. Il permet seulement d'introduire dans l'organisme une multitude de petites sources ponctuelles de rayonnements β , γ . Il peut dans certains cas se substituer avec avantages à l'implantation de sources de grande taille, type aiguille de radium, ou à l'irradiation profonde par voie externe.

C'est une méthode radiothérapique nouvelle avec ses possibilités spécifiques, ses avantages et ses inconvénients propres.

Ses applications en clinique ont été des plus variées [88 à 90]. Il est évidemment hors de notre propos de les analyser. Nous retiendrons seulement que l'administration du colloïde se fait soit par injections interstitielles dans les tumeurs, soit par injections intracavitaires, soit par injections intraveineuses.

Mais quelle que soit la voie utilisée, il est important de connaître la diffusion puis la localisation que prendra le colloïde dans l'organisme.

Intervient alors, d'abord, la dimension des micelles. C'est un facteur qui joue un rôle déterminant dans la distribution après l'injection. On recherche en général des particules grosses plus aisément contrôlables.

On comprend aussi l'intérêt de la monodispersion du colloïde. C'est une condition indispensable si l'on veut avoir un comportement bien défini.

La dimension n'explique cependant pas tout. Une substance colloïdale injectée dans une cavité reste en majeure partie dans la cavité ou ses environs [89]. Les globules rouges injectés dans des conditions analogues, bien que plus gros atteignent vite la circulation générale.

Il y a donc un comportement spécifique du colloïde. Les mécanismes qui l'expliquent *in vivo* sont certainement des plus complexes et encore mal connus. Ils relèvent en tout cas d'études pharmacodynamiques [51].

Cependant, les expériences faites *in vitro*, dans des conditions définies autant que le permettent les systèmes biologiques ou que les méthodes de physico-chimie classiques soient applicables, permettent d'orienter et d'aider la recherche médicale.

L'introduction d'or dans l'organisme évoque immédiatement les problèmes d'interactions métal-protéine, que nous avons déjà abordés pour l'étude de la stabilisation de l'hydrosol. Il serait certainement intéressant d'étudier de ce point de vue le comportement de l'or en présence d'autres protéines que la gélatine. Il nous a paru plus fructueux de suivre une autre voie.

En effet, on n'injecte pas dans l'organisme des micelles d'or libres avec des groupements ionogènes prêts à réagir avec les protéines rencontrées. Le colloïde est stabilisé par une quantité importante de gélatine (3 % en gélatine pour 3,5 mg % d'Au). Cette gélatine bloque tout au moins en grande partie, les éléments actifs de la particule comme nous l'avons montré précédemment. Une autre preuve est apportée par le fait que le signe de la charge des micelles change de part et d'autre du pHi de la gélatine [30].

Il nous semble donc logique de penser que la gélatine doit jouer un rôle prépondérant dans le comportement et le devenir de l'hydrosol dans l'organisme.

Les travaux antérieurs apportés par la littérature confirment, semble-t-il, cette idée.

EKHOLM [92] montre que dans l'électrophorèse du sérum d'un animal ayant subi une injection de chlorure d'or radioactif, la radioactivité se retrouve presque exclusivement localisée au niveau du pic de l'albumine.

Ce résultat est d'ailleurs conforme aux travaux bien antérieurs de ISSEKUTZ et LEINZINGER [93].

Mais par contre MURRAY [94], après SIMON [95], dans des expériences analogues faites avec de l'or colloïdal radioactif stabilisé par de la gélatine, et non avec de l'or ionique, retrouve dans les diagram-

mes électrophorétiques la radioactivité au niveau des α_2 globulines. Qui plus est, il remarque que la vitesse de disparition du radio-or dans la circulation générale de l'animal est inversement proportionnelle à la quantité de gélatine utilisée. Il suggère en conclusion que « c'est la gélatine plutôt que l'or métallique qui est liée aux globulines ».

Aussi plutôt que de nous orienter vers les interactions métalprotéines, pour apporter quelques données sur le devenir de l'or colloïdal dans l'organisme, nous avons pensé que l'étude des interactions de la gélatine avec les protéines aurait un intérêt encore plus grand.

Nous avons choisi les protéines sanguines parce qu'elles sont les premières à entrer en jeu lors des injections intraveineuses et intracavitaires. Et puis ce sont les seules qu'il nous était possible d'obtenir en quantité suffisante et qui soient définies dans des conditions relativement bonnes.

L'étude des interactions entre gélatine et protéines sanguines posait le problème des interactions des polyélectrolytes entre eux.

C'est un problème très vaste que nous sommes obligés d'analyser au moins d'une façon très succincte avant d'aborder les systèmes qui nous intéressent.

LES INTERACTIONS ENTRE POLYÉLECTROLYTES

Généralités

La plus grande partie des travaux anciens concernant les interactions entre polyélectrolytes portent sur des réactions de précipitation mutuelle. Par exemple, la formation de complexes insolubles a été la méthode classique d'étude des réactions antigène-anticorps. Le produit de la combinaison est, en général, un précipité floconneux ; mais on obtient parfois en observant des conditions strictes la formation de coacervats. Ainsi les systèmes gélatine et gomme arabique à 40° C ou sérum albumine et gomme arabique à la température ambiante, donnent au-dessous de pH 4,7 des coacervats.

L'étude des conditions de précipitation et des précipités eux-mêmes présente certainement un intérêt du point de vue analytique car ces réactions peuvent être spécifiques.

Elle permet aussi d'apporter des précisions sur les charges des macro-ions en présence.

Mais on ne peut pousser très loin les conclusions sur la nature intime de ces complexes. Il est très difficile de faire des mesures valables en milieu hétérogène.

Ces remarques s'appliquent aussi aux coacervats dont les conditions de stabilité sont de plus toujours très précaires, ce qui limite beaucoup l'expérimentation.

Depuis ces dernières années les techniques d'étude des macromolécules se sont développées grandement et ont permis de préciser les propriétés des polyélectrolytes en solution. On a pu alors mettre en évidence, dans des systèmes à plusieurs composants, l'existence de complexes solubles.

Ces complexes peuvent précéder l'apparition de complexes insolubles ou rester solubles quelles que soient les conditions expérimentales. Le champ d'investigation offert par les interactions entre polyélectrolytes s'est donc trouvé élargi.

De nombreux travaux ont été effectués en ce domaine. GEIDUSCHEK et DOTY [96] ont mis en présence l'albumine de bœuf et le désoxyribonucléate de sodium ; VASNOFF et BULL [97] l'ovalbumine et la pepsine. SOKOL [98], le désoxyribonucléate de sodium et l'albumine de cheval. Toutes ces études n'ont pour but que de mettre en évidence et caractériser le complexe soluble formé.

L'étude des liaisons mises en jeu a été moins développée que dans le cas de l'interaction des petits ions avec les polyélectrolytes. Cela tient essentiellement à la grande complexité des phénomènes étudiés. Si l'on considère les exemples types d'interaction précédemment cités, chaque composant du mélange envisagé possède une multiplicité de fonctions susceptibles de réagir pour créer une liaison. Les différentes configurations spatiales possibles dépendantes de la nature des chaînons, de la force ionique, du pH compliquent encore l'interprétation des mesures.

Des auteurs comme HEILWEIL et VAN WINKLE [99] pour mieux comprendre le mécanisme des liaisons ont dans un but de simplification, utilisé des polyélectrolytes synthétiques ne portant que des groupements bien définis ; ils ont étudié par exemple l'interaction du bromure de poly-4-vinyl-N-n-butylpyridinium avec l'ovalbumine.

Nous pouvons en principe comme dans le cas des interactions ions-polyélectrolytes distinguer ici aussi les liaisons par effets électrostatiques purs et les liaisons spécifiques.

En fait les liaisons électrostatiques pures sont très rares et ne peuvent exister que dans des cas très simples plus théoriques que pratiques car lorsque deux macromolécules sont en présence il est bien difficile que les facteurs de structure n'interviennent pas.

Toute classification est donc très difficile. On se borne généralement dans les différentes études à faire varier force ionique et pH pour conclure au caractère plus ou moins électrovalent des liaisons suivant l'amplitude des variations nécessaires à leur disposition.

Choix de la méthode — Position du système étudié

Parmi les techniques employées pour l'étude de l'interaction des polyélectrolytes entre eux on doit citer, à côté de la potentiométrie pH et de la spectrophotométrie, des méthodes mieux adaptées au cas des grosses molécules telles que l'électrophorèse, l'ultracentrifugation et la diffusion lumineuse.

La potentiométrie pH et la spectrophotométrie sont en général utilisées à deux fins : soit au début de l'expérimentation pour permettre de dégrossir les problèmes, soit à la fin de façon à préciser des points particuliers importants.

L'électrophorèse permet dans certains cas favorables d'obtenir des diagrammes électrophorétiques dans lesquels la présence d'un pic nouveau est le signe de l'existence du complexe formé [100]. Grâce aux travaux d'ALBERTY et MARVIN [101] ainsi qu'à ceux de SMITH et BRIGG [102] on peut évaluer la constante d'association de l'interaction ; il est rare cependant que l'on puisse par ce moyen d'étude obtenir des résultats précis.

L'ultracentrifugation permet également la mise en évidence de complexes en solution ; la méthode a été utilisée par FOSTER, BARONOWSKY et RACHINSKY [103], mais là encore une interprétation quantitative est souvent difficile.

Aussi la diffusion lumineuse est-elle maintenant fréquemment utilisée. Cette technique a, en effet, le grand avantage de permettre l'expérimentation tout en conservant l'homogénéité du milieu car la séparation des constituants du mélange n'est pas nécessaire. Elle permet en outre de chiffrer le taux d'interaction et de caractériser le complexe soluble formé par son poids moléculaire et son rayon de giration moyen.

Pour le problème qui se pose à nous, l'interaction des protéines sanguines avec la gélatine, la possibilité de faire les mesures sans modifier le milieu est d'un grand intérêt car les produits biologiques sont très facilement altérables.

La diffusion lumineuse est donc pour nous la méthode de choix.

Les équations de GEIDUSCHEK et DOTY [96] nous permettront à partir des diagrammes de ZIMM que nous avons déjà utilisés de traiter les systèmes à plusieurs composants susceptibles d'interagir entre eux.

ÉTUDE PAR DIFFUSION LUMINEUSE DE L'INTERACTION GÉLATINE - PROTÉINES SANGUINES

Rappel théorique

Une solution, la plus simple soit-elle, a deux composants : le solvant et le soluté. Nous nous sommes ramenés au cas d'un seul en soustrayant la diffusion du solvant, lors des mesures faites pour caractériser la gélatine et les modifications qu'elle subit par action de l'or ionique.

Pour étudier l'interaction entre la gélatine et les protéines sanguines nous devons tenir compte du fait que le soluté ne peut plus être considéré comme une entité et nous devons faire appel à la théorie développée pour les systèmes à plusieurs composants.

Cette théorie due principalement à STOCKMAYER [104] a été appliquée par GEIDUSCHEK et DOTY [96] au calcul des interactions entre deux polyélectrolytes. Ces auteurs tracent le diagramme de ZIMM du mélange tout comme nous l'avons fait lorsqu'un seul constituant macromoléculaire était dans le milieu ; ils démontrent alors que l'équation de la courbe extrapolée à angle nul est :

$$\frac{K (c_2 + c_4)}{R_0} = \frac{c_2 + c_4}{c_2 M_2 (\Phi_2 + 2\Phi_4)^2 + (c_4 - \delta c_2) M_4 \Phi_4^2}$$

M_2 et M_4 étant les poids moléculaires des polyélectrolytes considérés ; Φ_2 et Φ_4 leurs incréments d'indice de réfraction ; c_2 et c_4 leurs concentrations.

δ est alors le coefficient d'absorption massique défini comme le poids de composé 4 lié à l'unité de poids du composé 2 pour former le complexe soluble.

Après avoir calculé δ , en supposant que le composé 2 a totalement réagi, on peut évaluer l'intensité diffusée par l'excès du composant 4, la retrancher de l'intensité totale diffusée par le mélange et construire le diagramme de ZIMM correspondant au complexe seul. On déduit alors son poids moléculaire et son rayon de giration.

Mais plus simplement comme le signalent HEILWEIL et VAN WINKLE [99] le poids moléculaire du complexe est donné directement par :

$$M = M_2 (1 + \delta)$$

Quant au rayon de giration, étant donné que l'on atteint sa moyenne r_z , on peut l'obtenir directement d'après le diagramme de ZIMM du mélange si δ est supérieur à 0,3.

Ces généralités nous permettent d'aborder l'étude des interactions possibles entre gélatine et protéines sanguines. Nous définirons d'abord le matériel utilisé puis passerons à la recherche proprement dite de ces interactions.

Le matériel utilisé

— Les fractions protéiques

Nous ne pouvions espérer travailler séparément sur toutes les protéines du plasma prises individuellement les unes après les autres. Sauf dans quelques cas particuliers il est impossible d'obtenir des protéines humaines qui soient parfaitement pures et définies.

Nous avons donc expérimenté sur des fractions plasmatiques séparées par une méthode dérivée de celle de COHN et plus ou moins enrichies respectivement en albumine, α , β globulines et γ globulines.

Les compositions de ces diverses fractions fournies par le Centre de Transfusion sanguine de Montpellier ont été contrôlées qualitativement par analyse immunoélectrophorétique ; de plus les diagrammes électrophorétiques nous permettent de donner avec la marge d'erreur habituelle dans ce genre de mesure, la composition quantitative de ces fractions.

Les résultats sont les suivants :

Fractions	Albumine	α globulines	β globulines	γ globulines
I	0,74	0,14	0,12	0
II	0,13	0,12	0,39	0,36
III	0	0	0	1

Mis à part la fraction III formée uniquement de γ globulines, nous avons affaire à des mélanges complexes, ce qui, on le conçoit, rendra l'interprétation de toute mesure difficile.

Nous avons tracé le diagramme de ZIMM de chaque fraction. Pour cela, comme pour toutes les expériences suivantes, nous nous sommes placés dans des conditions aussi voisines que possible de celles rencontrées dans le milieu sanguin. Nos solutions étaient 0,15 M en ClNa, le pH voisin de 7 et la température maintenue à 37°.

Les concentrations étaient déterminées par dosage de l'azote et en employant un facteur de 6,25. Pour les mesures elles varient de :

0,6 %	à 0,12 %	pour la fraction I	
0,15 %	à 0,03 %	» » »	II
0,36 %	à 0,07 %	» » »	III

Les poids moléculaires obtenus étaient :

$M_w = 81\ 000$	pour la fraction I	
$M_w = 370\ 000$	» » »	II
$M_w = 175\ 000$	» » »	III

Les diagrammes traduisent la non-homogénéité des fractions I et II. Leur tracé est difficile. Les poids moléculaires moyens ne sont pas déterminés à mieux de 10 % près.

— La gélatine

Elle était toujours obtenue par dégradation à l'autoclave pendant 20 mn à 120°. Le tracé du diagramme de ZIMM dans les conditions habituelles conduit à :

$$M_w = 325\ 000$$

Le même résultat a été obtenu au pHi et à pH 7.

Mise en évidence des interactions

La mise en contact de la gélatine et des fractions protéiques se faisait toujours dans les conditions suivantes :

force ionique en Cl Na	0,15
pH	7,3

Aucun changement dans la concentration n'a été décelé après filtration des divers mélanges, éliminant ainsi toute possibilité d'une précipitation réciproque de leurs constituants.

Les mélanges ont été faits dans un rapport :

$$r = \frac{\text{grammes fractions protéiques}}{\text{grammes gélatine}} = 1,35$$

Les concentrations totales étaient :

0,60 à 0,12 %	pour le système	gélatine	Fraction I
0,25 à 0,05 %	» » »	»	II
0,40 à 0,08 %	» » »	»	III

Les solutions étaient maintenues à 37° et les dilutions à partir de la solution la plus concentrée étaient faites 2 heures avant que soient mesurées les intensités diffusées. Nous avons vérifié qu'après ce temps ces intensités restaient constantes pendant plusieurs heures.

Bien que les extrapolations soient délicates, nous avons pu tracer les diagrammes de ZIMM de ces mélanges. L'application des équations de GEIDUSCHEK et DORY nous a permis de calculer dans chaque cas le coefficient d'absorption massique, c'est-à-dire le poids de la fraction protéique du plasma liée à l'unité de poids de gélatine. Dans cette application nous avons supposé que le composé 2 était la gélatine et le composé 4 la fraction protéique.

Les résultats sont les suivants :

— Gélatine + Fraction I	$\delta = 0,36 \pm 0,07$
— Gélatine + Fraction II	$\delta = 0,70 \pm 0,15$
— Gélatine + Fraction III	$\delta = 0$

Ce qui conduit lorsque δ est positif, pour les complexes solubles formés, aux poids moléculaires moyens en poids suivants :

$M_w = 440\ 000$	(complexe gélatine - fraction I)
$M_w = 550\ 000$	(» » » II)

Nous ne donnons pas les rayons de giration. On ne peut en effet atteindre que leur moyenne z . Les matériaux de départ étant très polydispersés, ils n'ont pas de valeurs vraiment significatives.

L'interaction entre les γ globulines (fraction III) et la gélatine est pratiquement nulle.

Il est donc inutile de tenir compte de leur présence dans la fraction II. L'augmentation de la valeur de δ pour cette fraction (0,70) par rapport à celle de la fraction I (0,36) alors que le taux d'albumine diminue de 75 à 25 %, indique aussi que la sérumalbumine ne saurait interagir de façon appréciable avec la gélatine.

Ce sont essentiellement les α et β globulines qui dans les conditions expérimentales choisies, forment avec ce polyélectrolyte un complexe soluble. Devant l'impossibilité d'obtenir des fractions mieux définies, on pourrait certes calculer facilement à partir de nos résultats expérimentaux la part respective des α et des β globulines dans cette réaction, mais l'approximation assez large des mesures de δ et de l'analyse électrophorétique ne saurait permettre d'attacher une grande signification à ce calcul.

La méthode de diffusion lumineuse nous a donc permis de préciser le comportement de la gélatine en présence des protéines sanguines et en absence d'or, en mettant directement en évidence l'interaction certaine de ce polyélectrolyte avec le groupe des α et β globulines ; nous avons pu aussi évaluer avec une précision suffisante en ce domaine le taux de cette liaison et caractériser le complexe formé par son poids moléculaire.

Discussion et interprétation

Ces caractéristiques du complexe ont un intérêt physique certain mais elles ne nous renseignent pas sur la nature de la liaison.

Les conditions expérimentales ont été choisies pour être proches de celles rencontrées dans le milieu sanguin. La force ionique est considérable ce qui ne nous empêche pas d'obtenir des valeurs de δ relativement élevées. Ce fait s'oppose semble-t-il à une liaison par simple attraction électrostatique. Mais on ne doit pas cependant exclure tout effet de charge car les champs environnant les polyélectrolytes peuvent être très importants.

Effectivement, nous avons refait à pH 5, en maintenant la force ionique, les mesures faites à pH 7,3 sur les mélanges gélatine-fraction I : δ est devenu nul aux erreurs d'expérience près. La densité des charges, ou si l'on veut l'ionisation des groupes, joue un rôle dans l'interaction qui nous intéresse.

Laissons de côté, pour l'instant, les fractions protéiques qui sont des mélanges difficiles à définir et encore plus à schématiser et considérons la gélatine. Si des groupements chargés de la gélatine interviennent il est vraisemblable que ce sont des NH_3^+ ou des COO^- . Les variations de pH doivent se répercuter différemment sur l'interaction, si ce sont les sites positifs ou les sites négatifs qui sont en jeu.

Pour éclairer ce point et par voie de conséquence tenter de préciser l'interaction gélatine α , β globulines nous avons été amenés à l'étude de systèmes gélatine-polyacide et polybase synthétique.

LE SYSTÈME GÉLATINE - ACIDE POLYACRYLIQUE

a) *Les constituants*

— La gélatine employée est la même que celle utilisée précédemment. Son poids moléculaire est $M_w = 325\ 000$.

Nous avons vérifié qu'il ne variait pas dans toute la zone de pH où nous expérimentons.

— L'acide polyacrylique nous a été fourni par l'industrie en solution aqueuse à 25 % sans plastifiant.

Sa courbe de neutralisation nous a conduit à un pK_a de 5,6 qui est en accord avec les valeurs trouvées dans la littérature [32]. Elles nous permet aussi de connaître l'état d'ionisation sur différents pH.

La diffusion lumineuse de l'acide polyacrylique a été étudiée par GUINAND, BOYER-KAWENOKI, DOBRY et TONNELAT [108] qui ont montré la diminution de l'intensité diffusée lorsque l'ionisation augmente par effet d'organisation accru.

Pour avoir une bonne détermination du poids moléculaire, nous avons opéré en milieu fortement chlorhydrique. Les solutions étaient :

0,2 à 1 % en acide polyacrylique
0,35 N en HCl

Le diagramme de ZIMM conduisait à :

$$M_w = 104\ 000$$

b) *Le mélange*

La mise en contact d'acide polyacrylique ionisé avec la gélatine à un pH inférieur à 4,6 conduit à la formation d'un complexe insoluble.

Le mélange d'une solution d'acide polyacrylique et d'une solution de gélatine amenées toutes deux à un pH supérieur à 6 se fait par contre sans variation de pH.

Si maintenant on titre une solution de gélatine à 0,14 % au pH i par une solution d'acide polyacrylique amenée à pH 4,8, on s'aperçoit que le pH augmente jusqu'à pH 5,3 puis redescend lentement lorsque la concentration en acide polyacrylique augmente dans le milieu.

Ces expériences sont qualitatives mais elles mettent en évidence l'existence entre une zone de floculation et une zone sans réaction d'une troisième zone où une réaction sans floculation a lieu. Il y a probabilité de formation d'un complexe soluble précurseur du complexe insoluble lorsqu'on descend l'échelle des pH.

La diffusion lumineuse va nous permettre de le vérifier.

— Les mesures de diffusion lumineuse

Les mesures de potentiométrie pH ont été faites en l'absence de sel neutre. Pour les mesures de diffusion lumineuse la présence d'une certaine force ionique, μ , est nécessaire pour diminuer les effets d'organisation. Nous avons opéré dans un milieu 0,005 M en ClNa. C'est un compromis pour permettre d'obtenir des diagrammes extrapolables sans détruire les actions purement électrostatiques.

Les mélanges gélatine-acide polyacrylique étaient faits dans un rapport 1 (g d'acide polyacrylique/g de gélatine) voisin de l'unité. Les concentrations totales variaient de 1 à 0,2 % au cours des dilutions.

Les mesures étaient faites à 37°. Le pH variait entre 4,6 et 5,95, ce qui correspond à une variation du degré d'ionisation de l'acide polyacrylique de 0,28 à 0,57.

Le tracé des diagramme de ZIMM et l'application des équations de GEIDUSCHEK et DOTY conduisent aux résultats suivants :

μ	r	pH	δ	M
0,005	0,94	4,6	0,94	626 000
0,005	0,94	5,05	0,85	597 000
0,005	0,94	5,25	0,30	420 000
0,005	0,94	5,95	0	—

δ , coefficient d'absorption massique est le poids d'acide polyacrylique lié à l'unité de poids de la gélatine.

Pour interpréter plus valablement ces résultats nous avons fait varier la force ionique, le pH restant constant ce qui nous a donné :

pH	r	μ	δ	M
5,05	0,94	0,01	0	—
5,05	0,94	0,0075	0,45	468 000
5,05	0,94	0,005	0,85	597 000

c) *Interprétation*

Nous avons ici une interaction essentiellement électrostatique puisqu'une force ionique de 0,01 suffit pour la détruire.

L'acide polyacrylique ne peut réagir que par ses COO^- , la gélatine réagit donc par ses NH_3^+ .

Les COO^- du polyacide entrent en compétition avec les OH^- du milieu pour assurer la neutralité électrique autour des NH_3^+ ; c'est ce qui explique l'augmentation de pH observée dans les essais préliminaires.

C'est ce qui explique aussi l'augmentation de δ lorsque le pH baisse. L'approche du polyacide est favorisée par la diminution de la charge négative de la gélatine. Lorsque l'on passe en dessous du pHi la gélatine devient positive d'où la floculation pure et simple.

LE SYSTÈME GÉLATINE - POLYVINYLAMINE

Si l'interprétation précédente est valable nous devons retrouver une interaction analogue en remplaçant l'acide polyacrylique, porteur de COO^- réagissant avec les NH_3^+ de la gélatine, par de la polyvinylamine qui porte elle des NH_3^+ susceptibles de réagir avec les COO^- de la gélatine. Ceci par simple effet de symétrie.

a) *Les constituants*

— La gélatine utilisée ici provenait d'un lot donnant un poids moléculaire de 286 000.

— La polyvinylamine, livrée par l'industrie, était sous forme de chlorhydrate. Pour éviter l'ionisation, la détermination du poids moléculaire par diffusion lumineuse a été faite en milieu chlorhydrique. Les concentrations étaient :

0,1 à 0,5 % en polyvinylamine
0,5 N en HCl

Le tracé du diagramme de ZIMM conduisait à $M_w = 71\,500$.

b) *Le mélange*

Essais préliminaires.

Nous retrouvons les trois zones de pH signalées dans l'étude du système gélatine-acide polyacrylique. Mais ici le complexe insoluble se forme pour les pH élevés et la zone sans réaction se situe en dessous du pHi de la gélatine.

La zone intermédiaire a été caractérisée par la titration d'une solution de gélatine à 0,14 % par une solution de polyvinylamine à 0,22 %, les deux solutions étant initialement à pH 5. On note que le pH diminue lorsque la concentration en polyvinylamine augmente ; puis la valeur 4,45 étant atteinte, le pH croît lentement.

— *Les mesures de diffusion lumineuse*

La potentiométrie pH nous montrent la symétrie attendue entre les systèmes gélatine-acide polyacrylique et gélatine-polyvinylamine nous avons simplement vérifié l'existence du complexe soluble dans les conditions suivantes :

Les concentrations au cours des dilutions variaient de :

0,86 à 0,5 % pour le polyvinylamine
0,06 à 0,3 % pour la gélatine

Le rapport r était donc de 1.

La force ionique en ClNa était 0,005, et le pH 4,7.

Le coefficient d'absorption massique δ obtenu est alors de 0,4, ce qui correspond à un complexe de poids moléculaire :

$$M_w = 400\ 000.$$

c) *Interprétations*

Les NH_3^+ de la polyvinylamine réagissent avec les COO^- de la gélatine. Ils sont dans cette interaction en compétition avec les protons.

La réaction est d'autant plus aisée que le pH est plus élevé. On obtient un complexe insoluble lorsqu'au-dessus de pH 4 la charge globale de la gélatine devient négative.

LA LIAISON GÉLATINE α , β GLOBULINES

A LA LUMIÈRE DE CES RÉSULTATS.

Les interactions de la gélatine avec les polyacides et polybases synthétiques nous ont donné des exemples d'interactions essentiellement électrostatiques. Une force ionique de 0,01 les détruit.

L'interaction gélatine-globulines résiste elle, à une force ionique de 0,15. Mais l'action du pH nous a montré que nous ne devons pas négliger totalement l'effet des charges. Elle nous a indiqué que ce sont les pH élevés qui sont propices à l'interaction.

Si nous nous rapportons aux systèmes gélatine polyélectrolytes synthétiques étudiés, cet effet favorable des pH élevés semble indiquer que se sont les groupements COO^- de la gélatine qui doivent être intéressés par l'interaction étudiée.

Ceci n'est évidemment qu'une hypothèse car nous sommes loin des interactions électrostatiques pures dans le système gélatine-globulines et parce que notre raisonnement n'a tenu compte que d'un constituant du système, la gélatine. Cette hypothèse toutefois nous semble confirmée par le fait que le colloïde d'or stabilisé se lie aux globulines de la même façon que la gélatine pure. Or, nous avons montré que dans la liaison or-gélatine se sont les groupements basiques qui sont intéressés. Les groupes carboxyles sont donc tout aussi libres en présence d'or qu'en son absence.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Ce travail a évoqué de multiples problèmes. Il est cependant loin d'avoir soulevé tous ceux que pose l'or radioactif colloïdal du Commissariat à l'Énergie Atomique, sujet de notre étude, puisque nos mesures n'ont jamais porté ni sur de l'or colloïdal ni sur un composé radioactif.

Nous avons simplement essayé de mettre en évidence l'importance de la gélatine dans une telle préparation.

Nous avons montré que par son pouvoir réducteur doux la gélatine était propice à la fabrication de colloïdes d'or bien dimensionnés.

La formation d'un complexe entre la gélatine oxydée et l'or aureux doit expliquer en grande part l'effet protecteur de la gélatine sur l'hydrosol d'or.

Les modifications subies par la gélatine après action de l'or confirment cette réaction d'oxydo-réduction et cette réaction de complexion.

Enfin, la faculté d'interaction de la gélatine avec le groupe des α et β globulines qui apparaît dans nos mesures doit intervenir lors de l'emploi en thérapeutique de l'or radioactif colloïdal stabilisé par la gélatine.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] FARADAY. — *Phil. Transact.*, 154, 1857.
- [2] THIESSEN. — *Mikrochem.*, **2**, 1, 1924.
- [3] BUEHRER, WARTMAN et NUGENT. — *J. Am. Soc.*, **44**, 1271, 1927.
- [4] KAUTSKY et PAULI. — *Koll. Ch. Beih.*, **17**, 294, 1923.
- [5] FUCHS et PAULI. — *Koll. Ch. Beih.*, **21**, 195, 1925.
- [6] ADOLF et PAULI. — *Koll. Z.* **34**, 29, 1924.
- [7] SCHERRER. — *Nachr. Gött. Ges.*, 98, 1918.
- [8] BJORENSTAHL. — Thèse Upsala, 158, 1924.
- [9] ZSIGMONDY. — *Traité de Chimie colloïdale*, Dunod éd., Paris, 1926.
- [10] BEREŠTENEVA et KARGUIN. — *Usp. Khim. S.S.S.R.*, **24**, 3, 249, 1955.
- [11] MIE. — *Ann. Phys.* **4**, **25**, 377, 1908.
- [12] LANGE. — *Z. Physik. Chem.*, **132**, 27, 1928.
- [13] ROLLA. — *Chem. Zentr.*, **1910**, 1, 1586.
- [14] KIRSHAN. — *Proc. Indian Acad. Sci.*, **5A**, 94, 1937.
- [15] SUBBARAMAIA. — *Proc. Indian Acad. Sci.*, **2A**, 358, 1935.
- [16] RINDE. — *Koll. Z.*, **69**, 1, 1934.
- [17] GRIBNAU. — *Koll. Z.*, **82**, 15, 158 (1938).
- [18] VEITSOR. — *J. Phys. Chem. (U.S.S.R.)*, **9**, 486, 1937.
- [19] LLOYD et EVANS. — *Trans. Faraday Soc.*, **38**, 179, 1942.
- [20] LONG. — *J. Chem. Soc. Ind.*, **32**, 1015, 1932.
- [21] TURKEVITCH, GARTON et STEVENSON. — *J. Coll. Sci.* 1954, Suppl. E. 26.
- [22] DE BROUCKERE, WATILLO et REMONT. — *Bull. Soc. Chim. Belg.* **60**, 11, 1951.
- [23] DUCLAUX et COHN. — *Bull. Soc. Chim.*, 1207, 1957.
- [24] DUCLAUX et COHN. — *J. Chim. Phys.*, **57**, 9, 762, 1960.
- [25] PAULI. — *Koll. Beih.*, **17**, 294, 1923.
- [26] SACHS. — *J. Chim. Phys.*, **29**, 280, 1932.
- [27] PAULI et RUSSER. — *Koll. Z.* **58**, 22, 1932.
- [28] DUCLAUX. — *Colloïdes et gels*, Gauthier-Villars, 1953.
- [29] PAAL. — *Ber.*, **35**, 2236, 1902.

- [30] REINDERS et BENDIEN. — *Rec. Trav. Chim.*, **4**, 47, 1928.
- [31] KATCHALSKY et SPITNIK. — Colloque internat. du C.N.R.S., Strasbourg, 1954, p. 103.
- [32] BOURDAIS. — Thèse Sciences, Paris, 1958.
- [33] HARRIS et RICE. — *J. Phys. Chem.*, 1360, 1957.
- [34] KLOTZ. — *The Proteins*, Academic Press Inc. N.Y. Vol. 1, Part B, p. 727.
- [35] HUGHES. — *Cold. Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **14**, 79, 1950.
- [36] MILNOR. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **75**, 63, 1950.
- [37] MEHL, PACOVSKA, WINZLER. — *J. Biol. Chem.*, **177**, 13, 1949.
- [38] RISING, YANG. — *J. Biol. Chem.*, **99**, 755, 1932-3.
- [39] GURD et GOODMAN. — *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 670, 1952.
- [40] GUSTAVSON. — *Chem. and Industry G.B.*, **31**, 1070, 1957.
- [41] CARR. — *Arch. Biochem. Biophys.*, **43**, 147, 1953.
- [42] KEPES. — Thèse Sciences, Paris, 1955.
- [43] HENRY. — Communication privée.
- [44] BJERRUM. — *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **57**, 432, 1948.
- [45] TREADWELL. — *K. Lehrb. der analyt. Ch.*, **1**, 270, 1948.
- [46] VIDRA et ČELIKOVSKY. — *Collect. Czechosl. Chem. Communic.*, **23**, 3, 539, 1958.
- [47] POURADIER. — *Chimie et Industrie*, **74**, 6, 1175, 1955.
- [48] LANDUCCI, POURADIER et DURANTE. — Recent advances in Gelatin and Glue Research. Pergamon Press, 1958, p. 62.
- [49] GALLOP, SEIFTER et MEILMAN. — *Idem*, p. 82.
- [50] GUSTAVSON. — *Idem*, p. 259.
- [51] DESNUELLES et ANTONIN. — *C. R. Ac. Sci.*, **221**, 206, 1946.
- [52] DAVIS. — Recent advances, in Gelatin and glue Research. Pergamon Press, 1958, p. 225.
- [53] POLONOWSKI. — *J. Pharmacie de Belgique*, **3**, 4, 1939.
- [54] HENKEN et SCHUNK. — *Z. f. exp. Med.*, **3**, 729, 1948.
- [55] CRISTOL, BÉNÉZECH et CRASTES DE PAULET. — *Bull. Soc. Chim.*, 183, 1955.
- [56] GUSTAVSON. — *Svensk Kemisk Tidskrift*, **70**, 9, 367, 1958.
- [57] BORASKY. — *J. Amer. Leather Chemists Ass.*, **52**, 11, 596, 1957.
- [58] HENRY, HERCZEG et FISHER. — *Intern. Journ. of Applied Radiation and Isotopes*, **2**, 136, 1957.
- [59] TURKEVITCH. — *Amer. Scientist*, **47**, 1, 97, 1959.
- [60] RAYLEIGH. — *Phil. Mag.*, **37**, 81, 1881.
- [61] VON SMOLUCHOWSKI. — *Ann. Phys.*, **25**, 205, 1908.
- [62] EINSTEIN. — *Ann. Phys.*, **33**, 1275, 1910.
- [63] GANS. — *Z. Phys.*, **17**, 353, 1923.
- [64] DOTY. — *J. Chim. Phys.*, **44**, 76, 1947.
- [65] ZIMM. — *J. Chem. Phys.*, **16**, 1093, 1948.
- [66] CHARLESBY. — Action chimique et biologique des radiations, Masson, éd., 3^e série, p. 148.
- [67] ZIMM. — *J. Chem. Phys.*, **16**, 1099, 1948.
- [68] BENOIT. — *J. Polym. Sci.*, **11**, 507, 1953.

- [69] BENOIT, HOLTZER et DOTY. — *J. Phys. Chem.*, **58**, 635, 1954.
- [70] CABANNES. — La diffusion moléculaire de la Lumière. P.U.F., 1929.
- [71] STACEY. — *Light-Scattering in Physical Chemistry*. Butterworths, Scientific Publications. London, 1956.
- [72] TONNELAT. — *J. Chim. Phys.*, **47**, 821, 1950.
- [73] GUINAND et TONNELAT. — *J. Chim. Phys.*, **49**, 481, 1952.
- [74] PUTZEYS et BROSTEAUX. — *Trans. Far. Soc.*, **31**, 1314, 1935.
- [75] HADOW, SCHEFFER et HYDE. — *Canadian J. Research*, **27**, 791, 1949.
- [76] BRICE, HALWER et SPEISER. — *J. Optical Soc. Am.*, **40**, 768, 1950.
- [77] BISCHOFF. — Thèse Liège, 1950.
- [78] CARR et ZIMM. — *J. Chem. Phys.*, **18**, 1616, 1950.
- [79] BOSWORTH, MASSON, MELVILLE et PEAKER. — *J. Pol. Sci.*, **4**, 6, 565, 1952.
- [80] WIPPLER et SCHEIBLING. — *J. Chim. Phys.*, **51**, 201, 1954.
- [81] GUINAND et TONNELAT. — *J. Chim. Phys.*, **51**, 276, 1954.
- [82] O'KONSKI, BITRON et HIGUCHI. — A.S.T.M. Spec. Tech. Public. U.S.A., 1959, n° 250.
- [83] BENHAMOU et WEILL. — *Biochim. Biophys. Acta.*, **9**, 609, 1957.
- [84] BOEDTKER et DOTY. — *J. Phys. Chem.*, **58**, 969, 1954.
- [85] SCHULZ. — *Z. Phys. Chem.*, B. **30**, 379, 1935.
- [86] LANSING et KRAEMER. — *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 1369, 1935.
- [87] WILLIAMS, SAUNDERS et CICIRELLI. — *J. Phys. Chem.*, **58**, 774, 1954.
- [88] MULLER. — Util. Ener. Atom. à des fins pacifiques. Conf. Genève, 1955 Vol. X, p. 127.
- [89] ANDREWS, KNISELEY, PALMER, KERTCHMAR. — Idem, p. 141.
- [90] LAWRENCE. — Idem, p. 165.
- [91] COHEN. — *Produits Pharmaceutiques*, **16**, 4, 159, 1961.
- [92] EKHOLM. — *Acta Anatomica*, Vol. XI, Suppl. 15-2, 1951.
- [93] VON ISSEKUTZ et LEINZINGER. — *Arch. Exper. Path.*, **152**, 288, 1930.
- [94] MURRAY. — *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **91**, 252, 1956.
- [95] SIMON. — *Sciences.*, **119**, 95, 1954.
- [96] GEIDUSCHEK et DOTY. — *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 609, 1952.
- [97] YASNOFF et BULL. — *J. Biol. Chem.*, **200**, 619, 1953.
- [98] SOKOL. — *J. Pol. Sci.*, **30**, 581, 1958.
- [99] HEILWEIL et VAN WINKLE. — *J. Phys. Chem.*, **59**, 944, 1955.
- [100] LONGSWORTH et Mac INNES. — *J. Gen. Physiol.*, **25**, 507, 1942.
- [101] ALBERTY et MARVIN. — *J. Phys. Coll. Chem.*, **54**, 47, 1950.
- [102] SMITH et BRIGGS. — *J. Phys. Coll. Chem.*, **54**, 33, 1950.
- [103] FOSTER, BARONOWSKY et RACHINSKY. — *Biochim. Biophys. Acta.*, **33**, 259, 1959.
- [104] STOCKMAYER. — *J. Chem. Phys.*, **18**, 58, 1950.
- [105] GUINAND, BOYER-KAWENOKI, DOBRY et TONNELAT. — *C. R. Ac. Sci.*, **229**, 143, 1949.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	9
--------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

RÔLE DE LA GÉLATINE DANS LA PRÉPARATION ET LA STABILISATION DE L'OR COLLOÏDAL

Introduction	15
Les interactions ions-polyélectrolytes	20
Généralités	20
Position du système étudié	23
Les sels d'or en solution	24
Solutions de chlorure d'or : Hydrolyse	25
Solutions de chlorure d'or : Réduction	29
Conclusion	33
Etude potentiométrique du système or-gélatine	34
Potentiométrie pH	34
Potentiométrie d'oxydo-réduction	37
Etude spectrophotométrique du système or-gélatine	42
Spectrophotométrie des chlorures d'or	42
Spectrophotométrie des mélanges chlorures d'or-gélatine ...	45
CONCLUSION DES MESURES POTENTIOMÉTRIQUES ET SPECTROPHOTOMÉTRIQUES	50
Les groupements responsables de la complexion	52
Oxydation de la gélatine par le chlorure d'or	52
Interaction de la gélatine et du chlorure d'or	54
Préparation de l'or colloïdal	59

DEUXIÈME PARTIE

MODIFICATION SUBIE PAR LA GÉLATINE DANS LA PRÉPARATION ET LA STABILISATION DE L'OR COLLOÏDAL

Introduction	65
La méthode de diffusion lumineuse	67
THÉORIE	67
Diffusion lumineuse des petites molécules	68
Diffusion lumineuse des grandes molécules	71
Cas des polyélectrolytes	75
APPAREILLAGE	75
Application de la méthode de diffusion lumineuse à l'étude de la gélatine et de son comportement en présence de l'or à l'état ionique	79
Conditions expérimentales	80
Résultats	80
Calcul des fonctions de distribution	84
Discussion	87

TROISIÈME PARTIE

RÔLE DE LA GÉLATINE DANS L'UTILISATION DE L'OR COLLOÏDAL EN THÉRAPEUTIQUE

Introduction	91
Les interactions entre polyélectrolytes	94
Généralités	94
Choix de la méthode et position du système étudié	94
Etude par diffusion lumineuse de l'interaction gélatine-protéines sanguines	97
Rappel théorique	97
Le matériel utilisé	98
Mise en évidence des interactions	99
Discussion et interprétation	101
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	107
Bibliographie	109

DEUXIÈME THÈSE :

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Vu et approuvé :
Montpellier, le 31 mai 1961.

*Le Doyen
de la Faculté des Sciences de Montpellier :*

B. CHARLES,

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 1^{er} juin 1961.

*Le Recteur
de l'Académie de Montpellier :*

G. RICHARD.

Dépôt légal, 2^e trimestre 1961, N^o 456.